



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

REMODELAÇÃO CARDÍACA: COMPARAÇÃO ENTRE O VHS E PARÂMETROS
ECOCARDIOGRÁFICOS DE DIMENSÃO E FUNÇÃO DO CORAÇÃO
ESQUERDO EM CÃES

MARTA CRISTINA DA SILVA FONSECA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José Paulo Pacheco Sales Luís

Doutora Sandra de Oliveira Tavares de
Sousa Jesus

Dra. Maria João Calhau Fresca Faustino
Ferreira Tavares

ORIENTADORA

Dra. Maria João Calhau Fresca Faustino
Ferreira Tavares

CO-ORIENTADOR

Doutor António José Almeida Ferreira

2014

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

REMODELAÇÃO CARDÍACA: COMPARAÇÃO ENTRE O VHS E PARÂMETROS
ECOCARDIOGRÁFICOS DE DIMENSÃO E FUNÇÃO DO CORAÇÃO ESQUERDO EM
CÃES

MARTA CRISTINA DA SILVA FONSECA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José Paulo Pacheco Sales Luís

Doutora Sandra de Oliveira Tavares de
Sousa Jesus

Dra. Maria João Calhau Fresca Faustino
Ferreira Tavares

ORIENTADORA

Dra. Maria João Calhau Fresca Faustino
Ferreira Tavares

CO-ORIENTADOR

Doutor António José Almeida Ferreira

Agradecimentos

Ao Professor Doutor António Ferreira por aceitar ser meu co-orientador, e por toda a disponibilidade e apoio.

À Dra. Maria João Tavares pelo acompanhamento do meu estágio, pela ajuda na recolha e avaliação dos dados necessários à realização da presente dissertação e por toda a paciência e apoio ao longo da realização da mesma.

Ao Dr. Pedro Dunões pela oportunidade de realizar o meu estágio no Hospital Veterinário Muralha de Évora.

Ao corpo clínico que me acompanhou durante a para além do estágio – Dra. Ana Almeida, Dra. Maria Pereira, Dra. Mariana Orvalho, Dra. Rita Velez e Dra. Susana Carrega – pela ajuda e conhecimentos transmitidos. Às enfermeiras Alexandra Lameira e Hélia Figo por tudo o que me ensinaram. A toda a equipa do HMVE pelo bom ambiente de estágio que proporcionaram.

Às grandes amigas que encontrei na FMV, que me acompanharam durante o curso e cuja amizade tornou tudo mais fácil.

Ao Ivo Rosa pelo afeto e compreensão.

Aos meus pais pelo seu apoio durante este longo percurso.

Remodelação cardíaca: comparação entre o VHS e parâmetros ecocardiográficos de dimensão e função do coração esquerdo em cães

Resumo

A remodelação cardíaca é um processo que ocorre quando as condições de carga do coração mudam devido a alterações nas condições de volume, pressão ou da própria contractilidade. O estiramento do tecido cardíaco e níveis elevados de hormonas circulantes são importantes iniciadores da remodelação que, sendo inicialmente um processo compensatório, acaba por se tornar deletério. Estes estímulos levam a vários tipos de remodelação: estrutural, mecânica e elétrica. A compreensão dos vários mecanismos de remodelação é essencial para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas à doença cardíaca.

Os métodos imagiológicos são importantes no diagnóstico da doença cardíaca na medida em que permitem avaliar o grau de remodelação estrutural e mecânica do coração. No presente trabalho, comparou-se os resultados do exame radiográfico (VHS) de pacientes apresentados à consulta com parâmetros do exame ecocardiográfico, no que respeita à dimensão e função do átrio e ventrículo esquerdos. Os resultados sugeriram que o VHS se correlaciona positivamente com o DIVEs e o DIVEd, embora a intensidade desta correlação seja moderada, desencorajando a extrapolação de um valor a partir do outro.

Palavras-Chave: Remodelação Cardíaca, Correlação, VHS, AE/Ao, DIVEs, DIVEd

Cardiac remodeling: comparison between VHS and echocardiographic parameters of dimension and function of the dog's left heart

Abstract

Cardiac remodeling is a process taking place when the load conditions of the heart change in terms of volume, pressure or contractility. Stretching of the cardiac tissue and high levels of circulating hormones are important triggers for remodeling. This remodeling, being a compensatory process, eventually becomes deleterious. These stimuli lead to different types of remodeling: structural, mechanical and electrical. Understanding the mechanisms of remodeling is a key factor in developing new therapeutical approaches to heart disease.

Imagiologic methods are important in heart disease diagnosis as they allow us to access the degree of mechanical and structural heart remodeling. This work compares the results of the radiologic exam (VHS) with echocardiographic parameters related to dimension and function of the left atrium and ventricle (LVDs, LVDd, FS and EPSS). The results suggest a positive correlation between VHS and the LVDs and LVDd values. However, this correlation is of moderate intensity, cautioning against any extrapolation of one of the results from the other.

Key-words: Cardiac Remodeling, Correlation, VHS, AE/Ao, LVEd, LVEs

Índice

Relatório de Atividades de Estágio	1
Revisão Bibliográfica	4
1. Função cardíaca	5
1.1. Atividade elétrica cardíaca	5
1.1.1 Sistema de condução cardíaco	5
1.1.2. Modo de condução	6
1.1.3. Controlo da condução	6
1.2. O coração como bomba	8
2. A doença cardíaca e a remodelação	10
2.1. Desenvolvimento da insuficiência cardíaca	10
2.2. Adaptações compensatórias à doença cardíaca	11
2.2.1. Alterações do tónus autónomo	11
2.2.2. Activação de vias neurohormonais	11
2.2.3. Remodelação cardíaca	13
2.2.3.1 Remodelação muscular	13
2.2.3.2. Stress oxidativo	17
2.2.3.3. Remodelação subcelular/miofibrilar - Disfunção sarcomérica	21
2.2.3.4. Matriz extracelular/fibrose intersticial	24
2.2.3.5 MicroRNAs	28
2.2.3.6 Alterações da função elétrica	31
2.2.3.7. Remodelação metabólica	41
2.2.3.8. Morte celular	45
2.2. Papel dos mastócitos	48
3. Avaliação da remodelação cardíaca	51
3.1. Sinais radiográficos de remodelação	51
3.1.1. As variações normais no aspeto da silhueta cardíaca	51
3.1.2. A dimensão	54
3.1.3 As câmaras	55
3.2. Sinais eletrocardiográficos de remodelação	60
3.3. Sinais ecocardiográficos de remodelação	70
3.3.1. Medições de Câmaras	72
3.3.2 Função sistólica	74
Componente Prática	76

Introdução	76
Materiais e métodos	77
Resultados	79
Discussão	88
Conclusão	91
Bibliografia	92

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Diferenças entre as silhuetas cardíacas do cão e do gato no exame radiográfico	52
Tabela 2 – Caraterísticas da silhueta cardíaca no cão segundo os vários tipos de tórax	52
Tabela 3 – Valores do VHS (Vertebral Heart Score) para diferentes raças de cão.	55
Tabela 4 – Frequências cardíacas normais em cães consoante a idade e porte	63
Tabela 5 – Parâmetros eletrocardiográficos e seus valores normais no cão	65
Tabela 6 – Vistas padrão, direitas e esquerdas, utilizadas no exame ecocardiográfico	78
Tabela 7 – Raças presentes e sua frequência absoluta na amostra	81
Tabela 8 – Diagnósticos realizados e sua frequência absoluta na amostra.	81

Índice de Figuras

Figura 1 – Sistema de condução cardíaco	5
Figura 2 – Ligação integrina-sarcômero nos costâmeros.	15
Figura 3 – A maquinaria sinalizadora da integrina	16
Figura 4 - Esquema simplificado das cascatas sinalizadoras pró-fibróticas do fibroblasto cardíaco	27
Figura 5 - Apresentação esquemática das correntes despolarizantes e repolarizantes que dão forma ao potencial de ação num ventrículo normal de mamífero	34
Figura 6 – Representação esquemática dos conexons nas <i>gap junctions</i>	38
Figura 7 - Resumo dos padrões típicos de expressão das conexinas num coração de mamífero	39
Figura 8 - Vias de sinalização apoptóticas	46
Figura 9 - Radiografia torácica de uma cadela caniche com claro aumento do átrio esquerdo	56
Figura 10 – Radiografia torácica de uma cadela de raça indeterminada com sinais sugestivos de aumento do ventrículo esquerdo	58
Figura 11 – Radiografia torácica de um Schnauzer Gigante com cardiomegália generalizada	59
Figura 12 – Ilustração de um traçado eletrocardiográfico representando um ciclo normal de despolarização – repolarização cardíaco	61
Figura 13 – Sistema de eixos de Bailey com delimitação das “regiões” em que o eixo cardíaco é normal ou anormal no cão e no gato	66
Figura 14 - Tabelas de Tilley – tabelas matemáticas para o cálculo do eixo cardíaco	67

Índice de Gráficos

Gráfico 1 – Percentagem de casos assistidos pela aluna na consulta externa em cada área de especialidade	1
Gráfico 2 – Distribuição percentual dos procedimentos cirúrgicos assistidos pela aluna	3
Gráfico 3 – Frequências absolutas de idades na amostra	79
Gráfico 4 – Percentagem de cada sexo na amostra	79
Gráfico 5 – Percentagem de cães de pequeno, médio e grande porte na amostra	80
Gráfico 6 – Percentagem de cães de raça indeterminada e de raça definida na amostra	80
Gráfico 7 – Gráfico de dispersão representando a relação entre os valores do VHS, determinado na radiografia torácica, e os rácios átrio esquerdo/aorta, determinado na ecocardiografia.	82
Gráfico 8 – Gráfico de dispersão representando a relação entre os valores do VHS, determinado na radiografia torácica, com os valores do DIVEd, determinado na ecocardiografia.	83
Gráfico 9 – Gráfico de dispersão representando a relação entre os valores do VHS, determinado na radiografia torácica, com os valores do DIVEs, determinado na ecocardiografia	84
Gráfico 10 – Gráfico de dispersão representando a relação entre os valores do VHS, determinado na radiografia torácica, com os valores do EPSS, determinado na ecocardiografia.	86
Gráfico 11 – Gráfico de dispersão representando a relação entre os valores do VHS, determinado na radiografia torácica, com os valores do FS, determinado na ecocardiografia.	87

Abreviaturas

.O₂⁻ - Anião superóxido

.OH – Radicais hidróxido

[Ca²⁺] – Concentração de cálcio iónico

[Na⁺] – Concentração de sódio iónico

2D – Duas dimensões

5-HT – 5 hidroxitriptamina ou serotonina

AD – Átrio direito

AE – Átrio esquerdo

AIF – Apoptosis inducing factor, Fator indutor de apoptose

ALC – Isoforma atrial de cadeia leve de miosina

ANP – Atrial natriuretic peptide, Péptido natriurético atrial

Ao – Aorta

Apaf1 - Apoptotic protease activating factor

ATP – Adenosine trifosfate, Trifosfato de adenosina

AuE – Aurícula esquerda

AV – Atrioventricular

BNP – B-type natriuretic peptide, Péptido natriurético tipo B

bpm - Batimentos por minuto

BSC – Barorreflexo do seio carotídeo

Ca²⁺ - Cálcio iónico

CaMKII - Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II, proteína cinase dependente do cálcio/calmodulina

cAMP – Cyclic Adenosine Monophosphate, Adenosina monofosfato cíclica

Cas – CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) – associated, Proteína associada a CRISPR

c-Met – Proto-oncogene que codifica o HGF

CPT-1 – Carnitina palmitoil transferase tipo 1

cTnI – Troponina cardíaca I

cTnT – Troponina cardíaca T

Cx – Conexina

DAD – Delayed afterdepolarizations, pós-despolarizações retardadas

DCM – Dilated cardiomyopathy, cardiomiopatia dilatada

DHA – Ácido docosahexanóico

DIABLO - Direct IAP-Binding protein with Low PI

DISC – Death-inducing signaling complex, Complexo sinalizador indutor de morte,

DIVEd – Diâmetro interno ventricular esquerdo em diástole

DIVEs – Diâmetro interno ventricular esquerdo em sístole

DNA – Desoxiribonucleic acid, ácido desoxirribonucleico

DPA – Duração do potencial de ação

DSCT – Double-source computed tomography

DV – Dorsoventral

EAD – Early after-depolarization, pós-despolarizações precoce

ECA – Enzima conversora da angiotensina

ECC – Excitation-contraction coupling, emparelhamento excitação-contração

ECG – Eletrocardiograma

ECM – Extracellular matrix, Matriz extracelular

EC-SOD – Extracellular superoxid dismutase, Superóxido dismutase extracelular

EDV – End-diastolic volume, volume diastólico final

EF – Ejection fraction, fração de ejeção

EPA – Ácido eicosapentanóico

EPLVEd – Espessura da parede livre do ventrículo esquerdo em diástole

EPSS – E-point to septal separation, distância do ponto E da mitral à parede septal

ERK $\frac{1}{2}$ - Extracellular-signal-regulated kinase $\frac{1}{2}$, cinase regulada por sinais extracelulares $\frac{1}{2}$

ESId – Espessura do septo interventricular em diástole

ESV – End-systolic volume, volume sistólico final

FADD – Fas-associated protein with death domain, proteína associada a Fas com domínio de morte

FAK – Focal adhesion kinase, Cinase de adesão focal

FKBP12.6 - FK506 binding protein, proteína de ligação à FK506

FS – fractional shortening, fração de encurtamento

GAPDH - Gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase

GHSPx – Glutatião peroxidase

GSK – Glicogen syntase kinase, Cinase da glicogénio sintase

HCN - Hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated, (canais) ativados pela hiperpolarização

HGF – Hepatocyte growth factor, fator de crescimento dos hepatócitos

HV – Hipertrofia ventricular

HVE – Hipertrofia ventricular esquerda

HVME – Hospital Veterinário Muralha de Évora

I-1 – Inibidor da fosfatase de proteína 1

IAP- Inhibitor of apoptosis proteins, Proteínas inibidoras da apoptose

IC – Insuficiência cardíaca

IC – Insuficiência cardíaca

I_{CaL} – Corrente de cálcio despolarizante para dentro

I_{CaT} – Corrente de cálcio tipo T

ICC – Insuficiência cardíaca congestiva

ICD – Insuficiência cardíaca diastólica

IECA – Inibidor da enzima conversora da angiotensina

I_f – Corrente *pacemaker* ou *funny*

I_{K1} – Corrente de potássio retificadora “para dentro”

I_{Kr} - Corrente de potássio retificadora repolarizante para fora rápida

I_{Ks} - Corrente de potássio retificadora repolarizante para fora lenta

I_{Kur} – Corrente de potássio retificadora repolarizante para fora ultra-rápida

ILK – Integrin-linked kinase, Cinase ligada à integrina

I_{Na} – Corrente de sódio despolarizadora

I_{NaL} – Componente tardio da I_{Na}

I_{to} – Corrente de potássio transitória para fora

K^+ - Potássio iónico

LL – Latero-lateral

LTCC – L-type calcium channel, canal de cálcio tipo L

LVEDP – Left ventricular end diastolic pressure, pressão diastólica final do ventrículo esquerdo

MAD - Membro anterior direito

MAE – Membro anterior esquerdo

MAPK – Mitogen-activated protein kinase, Proteína cinase ativada por mitogénio

MCAD – Acyl-CoA desidrogenase de cadeia média

MHC – Myosin heavy chain, Cadeia pesada de miosina

miRNA – micro ribonucleic acid, micro ácido ribonucleico

MLC – Myosin light chain, Cadeia leve de miosina

MMP – Matrix metaloproteinase, metaloproteinase de matriz

MMVD – Myxomatous mitral valve disease, doença mixomatosa da válvula mitral

MPE – membro posterior esquerdo

MPTP - poro de transição de permeabilidade mitocondrial

mRNA – Ácido ribonucleico mensageiro

mtDNA – Mithochondrial desoxiribonucleic acid, ácido desoxirribonucleico mitocondrial

mtRNA – Mithochondrial ribonucleic acid, ácido ribonucleico mitocondrial

mV – milivolts

Na^+ - Sódio iónico

NADPH - Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, Fosfato de nicotinamida adenina dinucleótido

NCX – Na^+ / Ca^{2+} exchanger, canal trocador de sódio/cálcio

NRF – Nuclear respiratory factor, factor respiratório nuclear

O – Oxigénio

PA – potencial de ação

PaO₂ – pressão parcial de oxigênio

PCr – Fosfocreatina

PDE4D3 – Fosfodiesterase 4D3

PEP – Pre-ejection period, período de pré-ejeção

PGC-1 α - PPAR-coativador-1 α

PIP – Fosfatidil inositol fosfato

PIPKI – Type I phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase, Fosfatidil inositol fosfato cinase tipo I.

PKA – Proteína cinase A

PKB – Proteína cinase B

PKC – Proteína cinase C

PKD – Proteína cinase D

PLN – Posfolambano

PP-1 – Protein phosphatase 1, fosfatase de proteína 1

PPAR - Recetores ativados por proliferador de peroxissoma

Ras – Rat Sarcoma protein

RE – Retículo endoplasmático

RNA – Ácido ribonucleico

ROS – Reactive oxygen species, Radicais livres de oxigênio

RS – Retículo sarcoplasmático

RyR2 – Canal receptor de rianodina 2

SA – Sinoatrial

Ser2808 – Serina 2808

SERCA2a – Sarcoplasmic reticulum ATPase, ATPase do reticulo sarcoplasmático

Smac - Second Mitochondria-derived Activator of Caspase

SNP – Sistema nervoso parassimpático

SNS – Sistema nervoso simpático

SOD – Superóxido dismutase

SOD-CHS-CAT – Conjugado de superóxido dismutase, condroitina sulfato e catalase

SRC – Tirosina cinase codificada pelo proto-oncogene Src

TAB – Transaortic banding, ligação transaórtica

t_{calc} – valor calculado para o teste t de Student

Tfam - Fator de transcrição mitocondrial A

TGF – Transforming growth factor, fator de crescimento transformador

TIMP – Tissue inhibitor of matrix metalloproteinases, inibidores tecidulares das metaloproteinases de matriz

TNF – Tumor necrosis factor, Fator de necrose tumoral

UCP – Mitochondrial UnCoupling Proteins, Proteínas desemparelhadoras mitocondriais

UI – Unidades internacionais

VD – Ventrículo direito

VD – Ventrodorsal

VE – Ventrículo esquerdo

VHS – Vertebral heart score

VLC – Isoforma ventricular de cadeia leve de miosina

Relatório de Atividades de Estágio

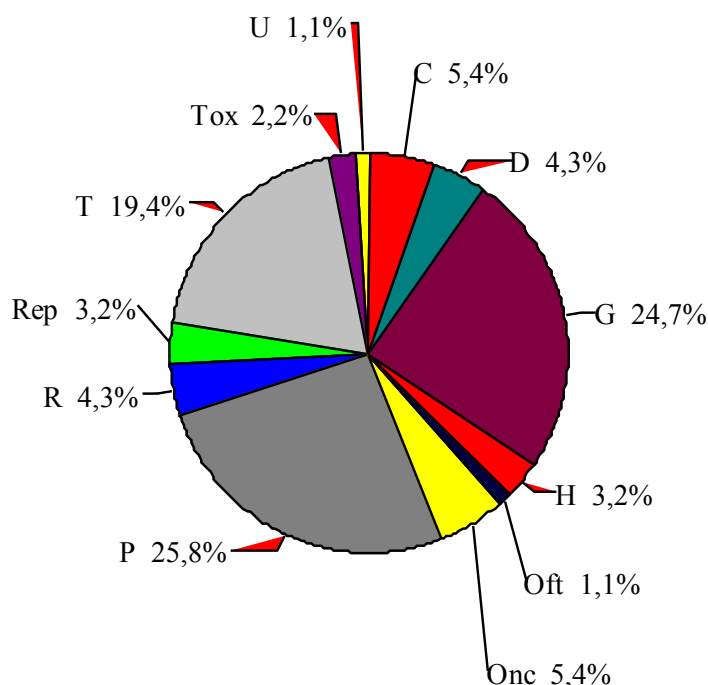
Durante os seis meses de estágio, a aluna esteve envolvida em várias das atividades correntes num hospital de animais de companhia. As principais áreas de atividade foram consulta externa, exames complementares de diagnóstico, internamentos e cirurgia.

Consulta externa

A maioria das consultas assistidas pela aluna foi de profilaxia médica (imunização ativa e desparasitação interna e externa), imediatamente seguida em termos de percentagem por casos na área da gastroenterologia e traumatologia. A aluna participou nas consultas auxiliando na contenção do paciente quando tal era requerido, realizando o exame de estado geral e, ocasionalmente, recolhendo a história pregressa.

O gráfico 1 mostra as percentagens de consultas de cada uma das áreas de especialidade assistidas pela aluna.

Gráfico 1 – Percentagem de casos assistidos pela aluna na consulta externa em cada área especialidade; C: cardiologia; D: dermatologia; G: gastroenterologia; H: hematologia; Oft: oftalmologia; Onc: oncologia; P: profilaxia médica; R: pneumologia (sistema respiratório); Rep: ginecologia/andrologia (sistema reprodutor); T: traumatologia; Tox: toxicologia; U: urologia.



Exames complementares de diagnóstico

A aluna realizou regularmente hemogramas e painéis bioquímicos sanguíneos (automatizado); citologias, principalmente auriculares; urianálise do tipo tira de urina e sedimento urinário; exame parasitológico de fezes, nomeadamente flutuação e sedimentação.

Na área da imagiologia, a aluna participou frequentemente na realização de exames radiográficos auxiliando na contenção do animal e na revelação (digital); também assistiu a inúmeros exames ecocardiográficos e de ecografia abdominal, tendo realizado alguns dos últimos.

Além disso, foram também realizados vários eletrocardiogramas pela, ou com participação, da aluna.

Internamento

A aluna colaborou diariamente no tratamento dos animais internados, nomeadamente na alimentação, realização periódica de exame físico, administração da medicação e/ou fluidoterapia prescritas.

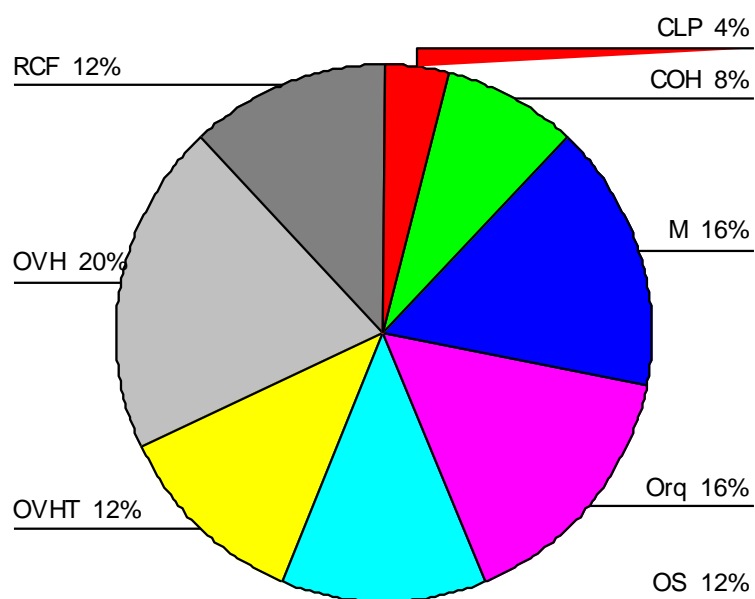
Cirurgia

A aluna assistiu a inúmeras cirurgias, sendo que as mais frequentes foram as eletivas (ovariohisterectomia e orquiectomia), embora tenha havido também um número significativo de remoções de tumor/cadeia mamária, e de cirurgias ortopédicas. O gráfico 2 mostra a percentagem de cada tipo de procedimento assistido.

Participou, também, na preparação dos pacientes para a cirurgia, nomeadamente na administração da medicação pré-anestésica, indução, preparação do campo cirúrgico, intubação endotraqueal e monitorização durante a anestesia volátil.

A aluna realizou, ainda, várias orquiectomias em gatos.

Gráfico 2 – Distribuição percentual dos procedimentos cirúrgicos assistidos pela aluna; CLP: correção de luxação da patela; COH: correção de otohematoma; M: mastectomia; Orq: orquiectomia; OS: osteossíntese; OVH: ovariectomia eletiva; OVHT: ovariectomia terapêutica; RCF: recessão da cabeça do fêmur (em luxação coxo-femoral).



Revisão Bibliográfica

O coração desempenha um papel chave no organismo de um animal uma vez que funciona como uma bomba que permite o movimento circulatório do sangue.

A insuficiência cardíaca é um síndrome que surge quando anomalias estruturais ou funcionais impedem o coração de se encher de, ou de ejetar adequadamente, sangue, deixando de suprir as necessidades metabólicas dos tecidos periféricos.

Nos estadios iniciais da doença, há a ativação de mecanismos compensatórios na tentativa de manter um desempenho cardíaco normal. Porém, a atividade neurohormonal aumentada acaba por conduzir a alterações desajustadas que apressam a progressão da síndrome, tais como: alterações do tônus autônomo, remodelação miocárdica (hipertrofia, necrose, apoptose), ciclo do cálcio e contratilidade anormais, ativação de vias neurohormonais e anomalias na produção energética do miocárdio (Fuentes, Johnson & Dennis, 2010). Os mecanismos contra-compensatórios, também ativados nesta situação, são insuficientes para prevenir as alterações deletérias. A compreensão dos diferentes mecanismos de remodelação é essencial para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas à doença cardíaca. Como tal, este trabalho abordará os diferentes tipos de remodelação cardíaca, os seus mecanismos, e os métodos de diagnóstico que permitem a avaliação da sua evolução.

1. Função cardíaca

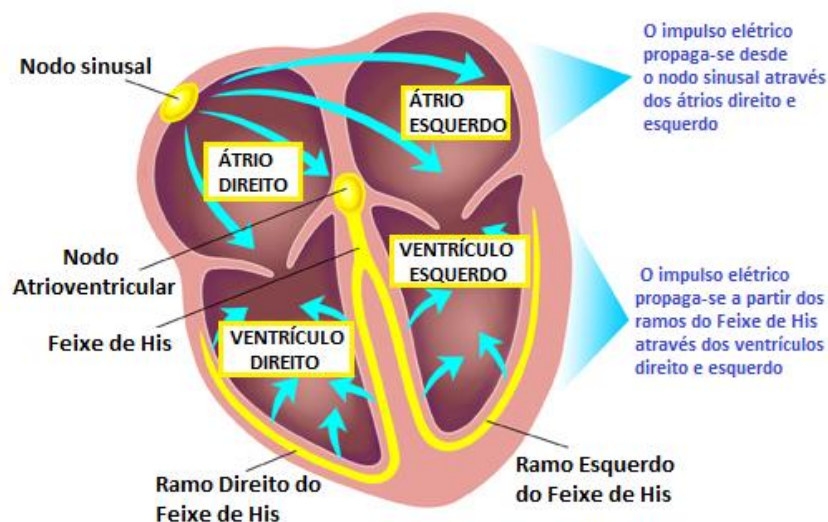
1.1. Atividade elétrica cardíaca

1.1.1. Sistema de condução cardíaco

O coração é um órgão muscular constituído por células estriadas especiais. As junções abertas, presentes nos discos intercalados entre elas, permitem que atue como um sincício funcional, isto é, que os potenciais de ação que despolarizam uma célula se propaguem diretamente pelas células vizinhas. É esta histologia especializada que permite a contração ordenada do músculo cardíaco, essencial para o desempenho da sua função de bomba. (Cunningham, 2004)

A despolarização regular do coração depende, não do sistema nervoso, mas de um sistema de fibras musculares especializadas que constituem o sistema de condução cardíaco. Este é constituído, como mostra a Figura 1, pelo nodo sinoatrial (ou nodo sinusal), situado no átrio direito; pelo nodo atrio-ventricular, posicionado entre os átrios e os ventrículos; pelo feixe de His, que parte do nodo atrioventricular e se divide em dois ramos, um para o ventrículo direito e outro para o esquerdo, sendo que este último se divide ainda em ramo anterior e posterior; e pela rede de fibras de Purkinje ao longo da parede dos ventrículos (Cunningham, 2004).

Figura 1 – Sistema de condução cardíaco (adaptado de <http://jakeweekes.wordpress.com/>)



1.1.2. Modo de condução

O nodo sinoatrial (SA) e o nodo atrioventricular (AV) são constituídos por células com a capacidade de iniciarem espontaneamente potenciais de ação, as chamadas células marca-passo. Porém, as células do nodo SA têm uma maior frequência de despolarização o que leva a que, em condições normais, seja aqui que se inicia a despolarização que vai originar as contrações cardíacas regulares. Uma vez formado, este potencial propaga-se de célula para célula ao longo dos átrios, promovendo a sua contração. Os átrios são separados dos ventrículos por uma camada de tecido conjuntivo, que não propaga potenciais de ação, de modo que há uma única via de transmissão destes potenciais dos átrios para os ventrículos: o nodo AV (Cunningham, 2004).

O nodo AV e a porção inicial do feixe de His conduzem muito lentamente os potenciais de ação. Esta propriedade é muito importante, já que permite que haja uma discrepância entre as contrações atrial e ventricular. Este nodo tem ainda a propriedade de gerar espontaneamente uma despolarização, atuando como marca-passo auxiliar no caso de disfunção do nodo SA. Tem ainda um período refratário muito longo, o que gera um efeito protetor face a frequências demasiado elevadas de despolarização do nodo SA (Cunningham, 2004).

Após passar o nodo AV, o potencial propaga-se através das células de condução rápida ao longo dos ramos esquerdo e direito do feixe de His que, por sua vez, se ramificam, no ápex do coração, na rede de fibras de Purkinje, transportando-o rapidamente ao longo das paredes internas e ambos os ventrículos. Esta rede propaga então o potencial de ação pelas fibras musculares ventriculares normais das paredes internas dos ventrículos, de onde ele se propaga de célula para célula através das paredes. Uma vez que a propagação do potencial é muito rápida, origina uma contração quase sincronizada de todas as fibras musculares de ambos os ventrículos (Cunningham, 2004).

1.1.3. Controlo da condução

O nodo SA gera despolarizações (logo, contrações cardíacas) regulares sem influência do sistema nervoso. O número destas despolarizações que se verifica por minuto é designado por frequência cardíaca intrínseca. Contudo, a frequência cardíaca normal de um animal varia bastante consoante a situação em que se encontra. Isto deve-se à influência dos sistemas nervosos simpático (SNS) e parassimpático (SNP) sobre o nodo SA, o nodo AV e as células contrácteis do miocárdio (Cunningham, 2004).

A noradrenalina, neurotransmissor simpático, liga-se a recetores beta-adrenérgicos na membrana das células marca-passo para exercer os seus efeitos. A ativação destes recetores acelera as alterações nos canais iónicos responsáveis pela despolarização espontânea. Assim, as células marca-passo atingem mais rapidamente o limiar de excitação, havendo um intervalo mais curto entre batimentos, ou seja, a frequência cardíaca é elevada acima do valor intrínseco (Cunningham, 2004).

A acetilcolina, neurotransmissor do SNP, pelo contrário, torna mais lenta a despolarização espontânea das células marca-passo ao ativar os recetores colinérgicos muscarínicos da membrana. No limite, isto faz com que as células marca-passo demorem mais a atingir o limiar de excitação, e a frequência cardíaca diminui (Cunningham, 2004).

Na prática, ambos os ramos do sistema nervoso autónomo exercem simultaneamente a sua influência sobre o coração, sendo que a frequência cardíaca observada é o resultado dos diferentes níveis de atividade que cada um deles exerce em cada momento específico. Por exemplo, quando um animal dorme, a atividade parassimpática predomina sobre a simpática, sendo assim a frequência cardíaca inferior à intrínseca. Já em situação de exercício físico intenso, é a atividade simpática que predomina e a frequência observada é superior à intrínseca (Cunningham, 2004).

O sistema nervoso autónomo atua não só nos nodos SA e AV, mas também em todas as restantes células cardíacas. A inervação simpática, nestas outras células, aumenta o número de canais de cálcio que se abrem durante o *plateau* do potencial de ação, levando a que este seja mais alto e mais curto, e originando contrações mais rápidas e mais fortes. A inervação parassimpática, embora influencie fortemente os nodos SA e AV e exerça influências anti-simpáticas sobre todas as células atriais, tem efeitos relativamente fracos sobre as células musculares ventriculares. Muito poucas das últimas recebem inervação parassimpática direta. Desta forma, a ação parassimpática no coração é exercida predominantemente sobre os nodos SA e AV e sobre todas as células supraventriculares. Além disso, o SNP exerce uma ação indireta sobre as células ventriculares. Aí, a acetilcolina é libertada nos neurónios terminais simpáticos, onde ativa os recetores colinérgicos muscarínicos, o que tem como consequência a inibição da libertação da noradrenalina (Cunningham, 2004).

1.2. O coração como bomba

O coração desempenha um papel chave no organismo de um animal devido ao facto de funcionar como uma bomba que permite o movimento circulatório do sangue. Esta função está dependente de vários parâmetros, nomeadamente a frequência cardíaca, a pré-carga, a complacência, a contratilidade e a pós-carga (Cunningham, 2004).

A *frequência cardíaca* é regulada, como anteriormente referido, pelas ações combinadas do SNS e do SNP. Trata-se de um parâmetro importante pois dela (conjuntamente com o volume sistólico) depende o débito cardíaco, definido como a quantidade total de sangue que cada ventrículo bombeia num minuto. Porém, deve ter-se em conta que frequências cardíacas mais elevadas implicam uma menor duração da diástole. Isto leva à redução do tempo de enchimento diastólico, portanto um aumento da frequência cardíaca não resulta num aumento proporcional do débito cardíaco. Além disso, uma diástole mais curta implica redução do tempo para a irrigação do miocárdio (Cunningham, 2004).

A *pré-carga ventricular* define-se como a pressão dentro de um ventrículo no final do enchimento diastólico. Uma vez que durante a diástole as válvulas AV estão abertas, esta pressão iguala a dos átrios; do mesmo modo, não havendo válvulas entre os átrios e as veias adjacentes, a pré-carga iguala também a pressão nessas veias centrais. O aumento do valor da pré-carga provoca um aumento do volume sistólico - volume de sangue ejetado de um ventrículo durante um batimento - ao aumentar o volume diastólico final, e vice-versa (lei do coração de Starling) (Cunningham, 2004).

Também a *complacência ventricular* condiciona o volume diastólico final e, consequentemente, o volume sistólico. Este parâmetro é uma medida da facilidade com que a parede ventricular se distende para acomodar o sangue que entra durante a diástole ou, mais exatamente, como a variação do volume dividida pela variação da pressão. Em condições normais, a complacência do ventrículo é elevada para volumes próximos do volume diastólico final, reduzindo-se apenas para pré-cargas muito elevadas. Certas afeções cardíacas, como isquémia, ou o simples envelhecimento, podem levar à redução da complacência ventricular (aumento da rigidez) mesmo com pré-cargas normais. Neste caso, é necessária pré-carga superior à normal para que o volume diastólico final seja normal (Cunningham, 2004).

A *contratibilidade* pode definir-se como a capacidade bombadora de um ventrículo e corresponde à frequência dos ciclos de contração das cadeias pesadas de miosina nas fibras musculares cardíacas; a contratibilidade é naturalmente aumentada por um estímulo simpático, que leva ao aumento do fluxo de cálcio para o interior do miócito. Uma maior contratibilidade

leva a um maior grau de esvaziamento do ventrículo durante a sístole, logo, ao aumento do volume sistólico mesmo sem aumento do volume diastólico final (Cunningham, 2004).

A *pós-carga* é a pressão contra a qual o ventrículo bombeia para ejetar sangue e corresponde, normalmente, à pressão arterial. Pós-cargas demasiado altas podem resultar numa redução significativa do volume sistólico (Cunningham, 2004).

2. A doença cardíaca e a remodelação

2.1. Desenvolvimento da insuficiência cardíaca

A insuficiência cardíaca surge quando anomalias estruturais ou funcionais impedem o coração de se encher de, ou de ejetar adequadamente, o sangue. Deste modo, não são supridas as necessidades metabólicas dos tecidos periféricos, ou são-no apenas sob altas pressões de enchimento (Nelson & Couto, 2006; Fuentes et al., 2010).

As causas de insuficiência cardíaca (IC) podem incluir-se em quatro categorias: défices de contratilidade primários (ex. cardiomiopatia dilatada [DCM], deficiências nutricionais); sobrecarga de pressão sistólica crónica (ex. estenose aórtica ou pulmonar, hipertensão sistémica) ou de volume (ex. insuficiências valvulares, comunicação entre câmaras); défice diastólico (ex. tamponamento cardíaco, hipertrofia concêntrica excessiva, cardiomiopatias hipertróficas e restritivas, fibrose do miocárdio); circulação hipercinética (raramente suficiente para induzir IC por si só, associa-se frequentemente a condições como tirotoxicose, febre, anemia crónica, arritmias) (Nelson & Couto, 2006).

Nos estadios iniciais da doença, há a ativação de mecanismos compensatórios na tentativa de manter um desempenho cardíaco normal, porém a atividade neurohormonal aumentada acaba por conduzir a alterações desajustadas que apressam a progressão da doença, tais como: alterações do tónus autónomo, remodelação miocárdica (hipertrofia, necrose, apoptose), ciclo do cálcio e contratilidade anormais, ativação de vias neurohormonais e anomalias na produção energética do miocárdio (Fuentes et al., 2010). Os mecanismos contra-compensatórios, também ativados nesta situação, são insuficientes para prevenir as alterações deletérias.

A IC pode ser sistólica, como na cardiomiopatia dilatada, ou diastólica, como no caso da cardiomiopatia hipertrófica.

Os sinais predominantes de IC podem ser de insuficiência congestiva (presença de derrames ou edemas) ou de baixo débito (fraqueza, síncope, hipotensão, baixa perfusão). A maioria dos casos de IC em animais de companhia envolve predominantemente sinais congestivos (Fuentes et al., 2010).

2.2. Adaptações compensatórias à doença cardíaca

2.2.1. Alterações do tónus autónomo

A doença cardíaca caracteriza-se pela ativação do SNS e simultânea redução de atividade do SNP (Nelson & Couto, 2006; Cunningham, 2004).

Em condições normais, os baroreceptores e mecanoreceptores do seio carotídeo, arco aórtico e paredes atriais produzem impulsos aferentes inibitórios que são transmitidos aos SNC e centros vasomotores. Reduções no débito cardíaco e na pressão arterial levam à retirada desse controlo inibitório, provocando um aumento da atividade simpática, suprimindo a atividade parassimpática (Fuentes et al. 2010).

O tónus simpático aumentado origina taquicardia, aumento da contratilidade, vasoconstrição e ativação do eixo renina-angiotensina-aldosterona. Estes efeitos são inicialmente benéficos ao melhorar o débito cardíaco e manter a pressão arterial, porém a ativação crónica acaba por esgotar as reservas cardíacas de noradrenalina, dessensibilizar os receptores β -adrenérgicos dos miócitos e causar perda celular por apoptose ou necrose (Fuentes et al. 2010).

Considerando que a ativação do baroreflexo do seio carotídeo (BSC) reduz o tónus simpático, aumentando o parassimpático, um estudo concluiu que a ativação elétrica a longo prazo do BSC melhora a função ventricular esquerda global, revertendo parcialmente a remodelação do ventrículo esquerdo, quer globalmente quer a nível celular e molecular, em cães com insuficiência cardíaca crónica avançada (Sabbah et al., 2011).

2.2.2. Ativação de vias neurohormonais

O fluxo sanguíneo renal diminuído e a reduzida entrega de cloreto de sódio à *macula densa* leva a ativação do eixo renina-angiotensina-aldosterona.

A renina produzida pela *macula densa* converte o angiotensinogénio em angiotensina I, que é depois convertida em angiotensina II pela enzima conversora da angiotensina (ECA). A angiotensina II é a molécula que desencadeia muitos dos processos deletérios que promovem a insuficiência cardíaca, nomeadamente a vasoconstrição, retenção renal de sódio, hipertrofia miocárdica, aumento da sede e aporte de água, apoptose e potenciação do SNS. Além disso, esta molécula induz a libertação de aldosterona do córtex adrenal, de arginina-vasopressina da hipófise e de endotelina-1 do tecido endotelial vascular.

A aldosterona contribui para a retenção de sódio e água, sendo também um potente factor mitogénico que contribui para a hipertrofia e fibrose miocárdica e vascular (Couto & Nelson, 2006; Fuentes et al. 2010).

A arginina-vasopressina aumenta a reabsorção de água no ducto coletor do nefrónio. Os seus níveis plasmáticos tendem a espelhar os da noradrenalina. O excesso de vasopressina leva a expansão do volume do fluido extracelular, contribuindo para os sinais congestivos e diluindo o sódio e cloro totais, o que leva a hipo-osmolaridade. Esta hiponatrémia dilucional é considerada um sinal de mau prognóstico (Fuentes et al. 2010).

A endotelina-1 é um vasoconstritor potente, caracteristicamente elevado na insuficiência cardíaca, que é produzido, não só em resposta à angiotensina II, mas também a várias citocinas vasoativas. Pode ser particularmente importante no leito vascular pulmonar, contribuindo para a hipertensão pulmonar. É possível, além disso, que seja tóxica para os miócitos e que interfira com o normal ciclo do cálcio (Fuentes et al. 2010).

Além deste eixo clássico, pensa-se que existe um eixo renina-angiotensina-aldosterona em paralelo contido no tecido miocárdico. É provável que este sistema tecidular contribua para a remodelação/hipertrofia miocárdica, e é possível que seja activado muito mais cedo na doença que o sistema circulante. Também existem, no miocárdio do cão e do gato, vias de conversão do angiotensinogénio em angiotensina independentes da ECA, através da enzima quimase. Isto leva a um certo nível de resistência aos inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECAs) por parte do sistema tecidular (Fuentes et al. 2010).

Contrabalançando o sistema renina-angiotensina-aldosterona e o SNS, são produzidos e armazenados no músculo atrial os péptidos natriuréticos: o péptido natriurético atrial (ANP) e o péptido natriurético tipo B (BNP). Libertadas em resposta ao aumento do estiramento da parede atrial, estas moléculas induzem vasodilatação, diurese e natriurese. Os seus níveis circulatórios em cães e gatos com doença cardíaca estão aumentados de forma mais ou menos proporcional à gravidade da doença. Não obstante, em casos avançados, o seu efeito é insuficiente para impedir a atividade vasoconstritora e retentora de água de outras vias neurohormonais (Fuentes et al. 2010).

Foi recentemente sugerido que a serotonina (5-hidroxitriptamina ou 5-HT) tem influência no desenvolvimento da doença mixomatosa da válvula mitral (MMVD) nos cães. De facto, constatou-se que as concentrações de 5-HT eram mais elevadas em raças de cães predispostos para o início precoce de MMVD (nomeadamente o Cavalier King Charles Spaniel) e cães com MMVD moderada, o que sugere que alterações na sinalização por 5-HT podem ter um papel importante na progressão de estadios precoces da doença (Ljungvall et al., 2013).

2.2.3. Remodelação cardíaca

A remodelação cardíaca pode ser definida como um processo envolvendo alterações ao nível de proteínas que representam várias funções. Este processo desenvolve-se quando as condições de carga do coração mudam devido a alterações nas condições de volume, pressão ou da própria contratilidade. O estiramento do tecido (miócitos e/ou fibroblastos) e níveis elevados de hormonas circulantes, como a angiotensina II, endotelina e noradrenalina, são importantes iniciadores do processo de remodelação. Através de um vasto número de vias, estes estímulos levam a vários tipos de remodelação: estrutural (alterações na espessura do músculo cardíaco e do seu conteúdo em tecido conjuntivo, e no tamanho das câmaras cardíacas), mecânica (contração e relaxamento anormais) e elétrica (aumento da sensibilidade a arritmias) (Peschar et al., 2004).

Embora se suponha frequentemente que a remodelação elétrica e mecânica coincidem com a remodelação estrutural (hipertrofia ou atrofia), isto não acontece sempre. Além disso, diferentes condições de carga levam a diferentes tipos de hipertrofia. Por exemplo, a sobrecarga de pressão leva a hipertrofia concêntrica assim como a remodelação elétrica, mas a redução da contratilidade pode ocorrer apenas num estágio mais avançado. Já o bloqueio atrioventricular leva a baixa frequência cardíaca com consequente sobrecarga de volume, o que leva a hipertrofia excêntrica. Embora o grau de remodelação estrutural seja menos pronunciado que no modelo anteriormente mencionado, é acompanhado por remodelação mecânica e elétrica pronunciada (Peschar et al., 2004).

2.2.3.1 Remodelação muscular

As alterações em massa e geometria do miocárdio representam uma das respostas primárias do coração ao aumento de trabalho. A remodelação do ventrículo é classificada em duas formas: hipertrofia concêntrica e hipertrofia excêntrica.

De acordo com a lei de Laplace, o *stress* da parede ventricular é elevado com o aumento da pressão e do diâmetro da câmara ventricular, e reduzido com o espessamento da parede. Deste modo, a hipertrofia concêntrica, resultante de uma replicação dos sarcómeros em paralelo, desenvolve-se em resposta a uma sobrecarga de pressão (aumento da pós-carga), como nos casos de hipertensão sistémica ou estenose aórtica. O aumento da espessura relativa das paredes ventriculares é um meio para reduzir o *stress* da parede face a pressões elevadas (Fuentes et al. 2010).

A hipertrofia excêntrica desenvolve-se em resposta a sobrecargas de volume (regurgitação mitral ou persistência do ducto arterial). Neste caso os sarcômeros replicam-se em série, com alongamento dos miócitos, dilatação das câmaras ventriculares e um pequeno aumento na espessura da parede. Aumentos dramáticos no diâmetro das câmaras tendem a aumentar o *stress* da parede além do ponto em que os ligeiros aumentos de espessura o podem compensar. O *stress* de parede elevado aumenta a necessidade de oxigénio do miocárdio, danifica o colagénio e a matriz extracelular e reduz a contratilidade intrínseca dos miócitos individuais (Fuentes et al. 2010).

As *integrinas*, uma classe de recetores de membrana, são especialmente importantes no desencadear da resposta hipertrófica ao *stress* mecânico provocado pela sobrecarga hemodinâmica. Trata-se de uma família de recetores da superfície da célula que consistem em subunidades α e β , associadas de forma não covalente, ancorando a célula à ECM (do inglês *extracellular matrix*). Ambas as subunidades se estendem através da membrana plasmática, sendo caracterizadas por um domínio extracelular grande e uma porção citoplasmática curta (Brancaccio et al., 2006).

Em conjunto com várias proteínas citoplasmáticas associadas, unem o aparelho contráctil sarcomérico à matriz extracelular através da membrana plasmática, desencadeando vias de sinalização intracelular que ativam o programa hipertrófico dos cardiomiócitos. As integrinas concentram-se em locais específicos da membrana plasmática: nos costâmeros e nos discos intercalados. Os costâmeros localizam-se em correspondência com os discos Z e permitem conexões laterais das miofibrilas à membrana plasmática ao longo do eixo celular maior (figura 2). Os discos intercalados são estruturas de união que asseguram a junção topo-a-topo dos filamentos de actina à membrana plasmática e permitem o acoplamento mecânico dos cardiomiócitos durante a contração (Brancaccio et al., 2006). A associação entre as integrinas e a actina é mediada por processos moleculares complexos que incluem duas classes de moléculas: proteínas estruturais e proteínas sinalizadoras. No primeiro grupo incluem-se a própria integrina $\beta 1$ e moléculas citoplásmicas como, por exemplo, a vinculina e a talina. As proteínas sinalizadoras incluem várias enzimas e moléculas adaptadoras que iniciam uma cascata de eventos bioquímicos que culmina na ativação de moléculas como a PKB, a Ras e a ERK 1/2, as quais executam o programa hipertrófico. A ILK é uma proteína com ambas as funções pois, além de poder fosforilar a PKB e a GSK-3 β , regulando a sobrevivência e proliferação celular, tem ainda um papel de ligação física da integrina à actina; a ILK liga-se à paxilina e à parvina, e a última interage com a actina (Brancaccio et al., 2006).

As proteínas sinalizadoras que intervêm neste sistema são as cinases SRC, FAK, PIPKI γ e as proteínas adaptadoras p130CAS, a melusina, a zyxina e a migfilina. Estas proteínas têm uma

ligação física com os elementos estruturais do complexo integrina-actina que é essencial para a transdução de estímulos mecânicos em eventos bioquímicos intracelulares. Como exemplo temos o mecanismo de regulação da talina e da vinculina. Ambas podem existir em duas conformações distintas: uma “fechada” (inativa), na qual os domínios terminais se ligam um ao outro prevenindo a interação com outras moléculas; e uma “aberta” (ativa), em que os domínios terminais estão separados e disponíveis para interações intermoleculares. A sinalização pela integrina desencadeada por interações entre a célula e a ECM e/ou por *stress* mecânico leva à ativação das cinases FAK e SRC, que fosforilam e activam a PIPKI- γ . Esta última, quando ativada, liga-se à talina, induzindo-lhe a conformação “aberta” seguida de ligação ao domínio citoplasmático da integrina. Isto leva à síntese local de grandes quantidades de PIP2 que, por sua vez, induz a conformação ativa da vinculina e a sua ligação à talina e à actina, levando assim à estabilização da maquinaria molecular que ancora a integrina aos filamentos de actina (figura 3) (Brancaccio et al., 2006).

Figura 2 – Ligação integrina-sarcómero nos costâmeros. O sarcómero consiste em feixes paralelos de fragmentos de filamentos grossos de miosina que se originam no disco M, interdigitados com filamentos finos de miosina ancorados ao disco Z. Os filamentos de actina e miosina são mantidos em conformação longitudinal pela titina, uma grande proteína que se estende como uma mola desde o disco M e o disco Z. Os filamentos de actina deslizam pelos de miosina em direcção ao disco M levando ao encurtamento do sarcómero e consequente contração muscular. O sarcómero está ancorado a integrinas da membrana plasmática através de uma série de proteínas do disco Z incluindo, entre outras, a α -actinina, a vinculina e a talina. Juntas, estas moléculas formam o costâmero (área destacada pela caixa), o complexo juncional que une a maquinaria contrátil às moléculas laminina e colagénio IV da matriz extracelular (Brancaccio et al., 2006).

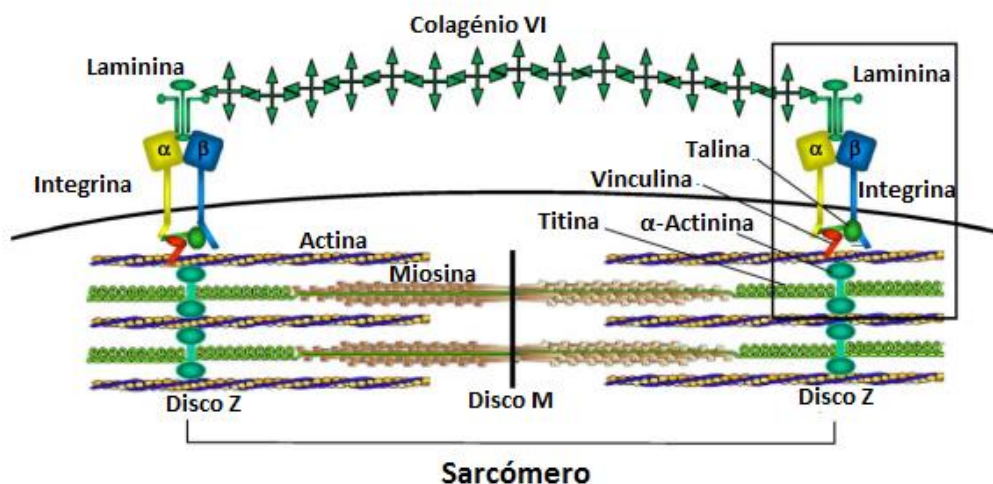
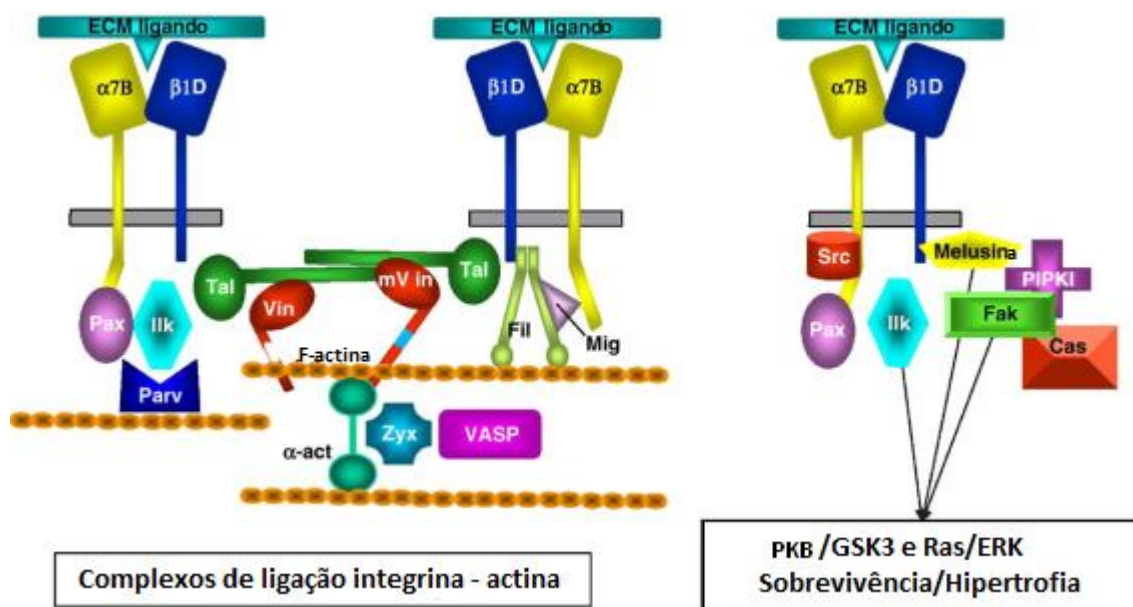


Figura 3 – A maquinaria sinalizadora da integrina. Na face citoplásmica da membrana plasmática as integrinas coordenam a reunião de um grande complexo de molécula estruturais ligando o seu domínio citoplásmico aos filamentos de actina (painel da esquerda). Os complexos talina/vinculina/ α -actinina e ILK/paxilina/parvina foram profundamente investigados no seu contributo para esta função. O papel do complexo filamina/migfilina, não obstante o seu potencial interesse, foi estabelecido com menos detalhe. Adicionalmente, uma série de proteínas sinalizadoras e adaptadoras participam neste complexo (painel da direita). Quer a FAK quer a melusina controlam a fosforilação da AKT/GSK3h e da ERK 1/2; quanto à ILK, está descrito que age maioritariamente na PKB/GSK3h. Estas vias de sinalização levam quer à sobrevivência celular, quer à resposta hipertrófica. A separação entre proteínas estruturais e sinalizadoras é apenas feita com propósitos de esquematização, uma vez que as duas classes integram uma com a outra física e funcionalmente. Tal: talina; α -act: α -actinina; ILK: cinase ligada à integrina (integrin linked kinase); Par: parvina/IKLBP; Pax: paxilina; Fil: filamina; Mig: migfilina; Zyx: zixina; VASP: vasodilator-stimulated phosphoproteína; CAS: p130CAS; FAK: cinase de adesão focal (focal adhesion kinase); ECM ligand: proteína da matriz extracelular; PIPKI: fosfato cinase do fosfatidil inositol tipo 1 (phosphatidyl inositol phosphate kinase type 1)(Brancaccio et al., 2006).



Estudos genéticos e bioquímicos investigaram o papel da integrina $\beta 1$ na função dos cardiomiócitos. A ausência de expressão da mesma nos cardiomiócitos leva a fibrose miocárdica e ao desenvolvimento de cardiomiopatia hipertrófica nos ratos transgênicos. Quando a função da integrina no miocárdio é corrompida, os ratos morrem perinatalmente, exibindo substituição fibrosa difusa do miocárdio. Estas observações indicam que a interação entre a actina e a matriz extracelular via integrina $\beta 1$ é necessária para a organização e manutenção dos cardiomiócitos no tecido cardíaco (Brancaccio et al., 2006).

Os cardiomiócitos e as células musculares esqueléticas expressam a integrina $\beta 1D$, uma isoforma específica caracterizada por uma sequência de aminoácidos única no domínio citoplásmico, o qual se liga à talina com uma afinidade maior comparativamente à isoforma $\beta 1A$, expressa nas células não musculares. Além disso, a ligação da talina ao domínio citoplásmico da integrina $\beta 1D$ induz uma alteração conformacional que se propaga através da membrana plasmática, induzindo na molécula um estado de alta afinidade para os seus ligandos

na ECM. Deste modo, a $\beta 1D$ liga-se com maior afinidade quer aos elementos citosqueléticos, quer aos ligandos extracelulares, constituindo, assim, um elo mais forte entre a ECM e as proteínas sarcoméricas quando comparada com a isoforma não muscular $\beta 1A$. A relevância funcional *in vivo* da isoforma $\beta 1D$ foi investigada através de ratos *knock-in* expressando apenas a isoforma $\beta 1A$. De facto, a última pode substituir a primeira sem causar grandes defeitos de função ou estrutura. Porém, interessante, os “cardiomiócitos $\beta 1A$ ” apresentam níveis elevados de mRNA do ANP e da cadeia pesada β da miosina, indicando ativação parcial de dois importantes genes hipertróficos. Além disso, marcadores bioquímicos indicaram que a expressão forçada da integrina $\beta 1A$ nos cardiomiócitos induz um grau modesto, embora significativo, de hipertrofia cardíaca em condições basais. Estas observações sugerem que a isoforma $\beta 1A$ seja mais sensível ao estiramento mecânico, gerando sinais hipertróficos em condições normais de trabalho muscular. Deste modo, é provável que o principal papel do elo mais forte gerado pela isoforma $\beta 1D$ seja elevar o limiar de resposta ao *stress* mecânico, condição necessária nos cardiomiócitos, que estão sujeitos a tensão mecânica muito mais intensa que as células não musculares (Brancaccio et al., 2006).

2.2.3.2. *Stress* oxidativo

O termo *stress* oxidativo refere-se a um desequilíbrio entre a produção de radicais livres (*reactive oxygen species* –ROS) e a capacidade das defesas antioxidantes. O aumento do *stress* oxidativo está implicado na maioria dos tipos de insuficiência cardíaca congestiva, incluindo cardiomiopatias isquémicas e não isquémicas, sobrecargas de pressão ou de volume e taquicardiomiopatias (Seddon, Looi & Shah, 2007).

Estudos recentes sugerem que há preservação da atividade normal das enzimas antioxidantes na insuficiência cardíaca, sendo o *stress* oxidativo resultado de um aumento na produção de ROS.

No coração, as fontes de ROS incluem os cardiomiócitos, as células endoteliais e os neutrófilos. Nos cardiomiócitos do coração insuficiente, são importantes produtores de ROS o transporte de eletrões mitocondrial e a enzima NADPH oxidase. Esta última é capaz de gerar ROS em resposta à angiotensina II, cuja produção está aumentada na insuficiência cardíaca.

Os ROS, como os aniões superóxido ($\cdot O_2^-$) e os radicais hidróxido ($\cdot OH$), causam a oxidação dos fosfolípidos de membrana, das proteínas e do DNA e estão implicados em condições patológicas como as lesões de reperfusão e doenças neurodegenerativas e também no envelhecimento. Em condições fisiológicas os seus efeitos tóxicos são prevenidos por enzimas

como a superóxido dismutase (SOD), a glutatíon peroxidase (GSHPx) e a catalase, assim como por outros antioxidantes não enzimáticos.

Quando a produção de ROS, porém, excede a capacidade antioxidante destes agentes, o *stress* oxidativo que daí advém pode ter um efeito prejudicial na função e integridade estrutural dos tecidos (Tsutsui, Kinugawa & Matsushima, 2009).

O próprio DNA mitocondrial (mtDNA) é um alvo particularmente vulnerável à ação nociva dos radicais livres por vários motivos. Primeiro, não possui uma organização complexa em cromatina com histonas, que poderiam servir de barreira protectora contra ROS; tem uma capacidade de auto-reparação limitada; além disso, uma grande parte dos aniões superóxido formados na mitocôndria não passam através das membranas, ficando contidos no seu interior. O dano do mtDNA traduz-se por uma redução dos transcritos de RNA mitocondrial (mtRNA), na síntese proteica e na função da mitocôndria. A disfunção mitocondrial causada por aumentos crónicos na produção de ROS conduz, então, à produção de mais ROS que vão afetar por sua vez a estrutura e função da célula, além de ativarem moléculas de sinalização intracelular. Em última instância, ROS resultam num fenótipo caracterizado por hipertrofia e apoptose em miócitos isolados (Tsutsui et al. 2009).

ROS têm também efeitos pró-fibróticos que envolvem processos como aumento da proliferação de fibroblastos e sua transformação em miofibroblastos produtores de matriz, a expressão de genes pro-fibróticos e alterações do equilíbrio entre as atividades das metaloproteinases da matriz (MMPs – *matrix metalloproteinases*) e os inibidores tecidulares das mesmas. As metaloproteinases da matriz constituem uma família de enzimas proteolíticas que desempenham um importante papel nos processos normais de remodelação do tecido como sejam a migração celular, invasão, proliferação e apoptose. Regulam também processos como a angiogenese e a degradação da matriz extracelular. Quando sustentada, a ativação das mesmas derivada de ROS pode influenciar as propriedades estruturais do miocárdio por levar à criação de um ambiente extracelular anormal com o qual os miócitos vão interagir (Tsutsui et al. 2009; Murdoch, Zhang, Cave & Shah, 2006).

Em cardiomiócitos em cultura, foi demonstrado que a hipertrofia induzida pelas enzimas angiotensina II, endotelina-1, norepinefrina, TNF- α ou por estiramento mecânico pulsátil envolve a produção intracelular de ROS e é inibida por antioxidantes. *In vivo*, o desenvolvimento experimental de hipertrofia do ventrículo esquerdo induzida por sobrecarga de pressão em ratos ou cobaias é atenuado por antioxidantes, sugerindo mais uma vez a implicação de ROS no processo (Seddon et al. 2007).

Os ROS estão também implicados na disfunção contrátil encontrada em casos de insuficiência cardíaca. Estudos *in vitro* sugerem vários mecanismos através dos quais isto pode acontecer,

incluindo perturbações no ciclo do cálcio, alterações na resposta miofibrilar ao cálcio e efeitos nocivos no metabolismo celular (Seddon et al. 2007).

É correntemente reconhecido que a função cardíaca é melhorada com a suplementação de coenzima Q10. Além de fazer parte da cadeia respiratória mitocondrial e desempenhar, portanto, um papel na produção de energia pela célula, esta co-enzima tem ainda propriedades antioxidantes, particularmente em fenómenos isquémicos no miocárdio. A co-enzima Q10 contraria o *stress* oxidativo por duas vias: diretamente, eliminando os radicais livres produzidos e indiretamente ao regenerar as formas activas de outras moléculas antioxidantes. Pode ser administrada como suplemento oral, mas também através da alimentação, sendo a carne um alimento particularmente rico. (Sagols & Priymenko, 2011).

Existem oito isómeros de vitamina E e todos são lipossolúveis e têm propriedades antioxidantes, mas a forma mais ativa é o α -tocoferol. Esta vitamina desempenha um papel de barreira celular para as moléculas oxidantes produzidas durante o *stress* oxidativo. Num estudo em ratazanas, a suplementação com vitamina E levou ao aumento da sua incorporação das membranas celulares, reduzindo a quantidade de proteínas oxidadas na célula. Não foi ainda estabelecida uma dose recomendada para obter o efeito antioxidante desejado, mas o aporte mínimo diário deve ser de 50 UI/kg, sendo o máximo de 1000 UI/kg (a vitamina E é ligeiramente tóxica). Há que ter em conta que a absorção intestinal desta vitamina é bastante condicionada pela composição da alimentação: a presença de ácidos gordos polinsaturados e agentes oxidantes implica um aumento da necessidade de vitamina E, enquanto uma dieta contendo ácidos gordos monoinsaturados ou selénio leva à redução da sua necessidade (Sagols & Priymenko, 2011).

Os polifenóis constituem uma família vasta que se compõe de mais de 8000 moléculas orgânicas diferentes. Todos se caracterizam por um ou mais núcleos benzénicos onde estão fixados um ou mais grupos álcool (-OH). Num estudo em ratazanas, a suplementação com extracto de polifenóis durante 14 dias reduziu significativamente os efeitos nocivos das lesões de isquémia-reperfusão: melhora da contratilidade do miocárdio, redução do edema celular e limitação da disfunção nas células cardíacas. Outro estudo demonstrou a redução do dano celular devido ao *stress* oxidativo e o aumento nas concentrações da glutatíon-peroxidase e da glutatíon redutase, o que confirma a ação antioxidante dos polifenóis (Sagols e Priymenko, 2011).

A presença de ácidos gordos essenciais nas membranas celulares reduz a sensibilidade das mesmas aos ROS, constituindo uma primeira barreira contra o *stress* oxidativo. Estes ácidos gordos desempenham também um papel na eliminação dos ROS produzidos no interior da célula, participando assim na proteção dos seus constituintes internos. Em ratazanas, a suplementação diária com ómega 3 aumenta a concentração celular de SOD no coração. Todavia, nem todos os ácidos gordos essenciais são equivalentes; os ómega 6 não induzem os

mesmos benefícios nas células cardíacas. Os ácidos gordos ómega 3 podem ser encontrados nos peixes gordos, na soja, na colza ou nos óleos de linho. Embora a dose óptima de ómega 3 ainda não tenha sido determinada, o rácio ómega 3:ómega 6 aparenta ser muito importante. De facto, se a quantidade de ómega 3 for demasiado elevada, existe risco de peroxidação dos lípidos. O rácio mais adequado parece ser de 5:1 (Sagols & Priymenko, 2011). Além disso, há que ter em conta que os benefícios potenciais dos ácidos gordos ómega 3 são estudados usando uma combinação de ácido docosahexanóico (DHA) e ácido eicosapentanóico (EPA). Tendo-se constatado que esta combinação reduz, de facto, a vulnerabilidade à fibrilhação atrial experimentalmente induzida, verificou-se que, interessantemente, o DHA é mais eficiente que o EPA em atenuar a vulnerabilidade à fibrilhação e à remodelação atrial quando administrados isoladamente (Ramadeen et al., 2012).

Publicações recentes acerca de antioxidantes enzimáticos deixam entrever o próximo estadio de desenvolvimento da terapia antioxidante. A EC-SOD (superóxido dismutase extracelular) é de especial interesse para os investigadores pois demonstrou ser um marcador e corretor eficiente em casos de hipertensão, insuficiência cardíaca, *diabetes mellitus* e aterosclerose. A investigação da eficácia antioxidante de outras enzimas, como a SOD-1, SOD-2 e catalase, prossegue. Podem ser usados métodos de síntese biológica e química para obter enzimas com atividade catalítica adicionada. Derivados deste tipo, como o SOD-CHS-CAT, um conjugado de SOD, condroitina sulfato e catalase, são prometedores na investigação biofarmacêutica futura. Presentemente, o foco principal da experimentação em enzimas antioxidantes são os estadios científicos e pré-clínicos de investigação (Maksimenko & Vavaev, 2012).

O nebivolol é um β -bloqueador de terceira geração altamente seletivo para os recetores β_1 que tem como efeito adicional vasodilatação pela interação com a via endotelial L-arginina/óxido nítrico. Este duplo mecanismo de ação resulta em vários benefícios como reduções na frequência cardíaca e pressão sanguínea assim como o melhoramento das funções sistólica e diastólica. Possui além disso uma notável ação antioxidante, eliminando ROS pela interação direta com os radicais livres. Foi demonstrado que o nebivolol reduz a concentração do anião superóxido nas células endoteliais, efeito detetado quer em modelos experimentais quer em pacientes humanos. Deste modo, o nebivolol não só reduz o *stress* oxidativo como aumenta a biodisponibilidade do óxido nítrico. O efeito antioxidante deste fármaco está também associado a redução nos peroxinitritos e à inibição da atividade da NAD(P)H oxidase em vários modelos experimentais de hipertensão (Toblli, DiGennaro, Giani & Dominici, 2012).

O osthole é um composto cumarínico isolado do fruto do *Cnidium monnieri* (L.). Um estudo em ratazanas sugere que este composto pode exercer um efeito terapêutico na hipertrofia

cardíaca, podendo o mecanismo de ação estar relacionado com a melhoria do *stress* oxidativo miocárdico e do metabolismo lipídico (Zhou, Zhong, Xue, Gu & Xie, 2012).

2.2.3.3. Remodelação subcelular/miofibrilar - Disfunção sarcomérica

A insuficiência e hipertrofia cardíacas estão associadas a alterações no conteúdo e distribuição das proteínas contráteis no miócito. Estas alterações parecem ter importância no que diz respeito à função cardíaca, uma vez que foi demonstrada uma redução da atividade da ATPase miofibrilar do miocárdio não só no coração insuficiente humano mas também em modelos animais de hipertrofia ventricular (Tombe, 1998).

A disfunção sarcomérica tem um importante papel na redução da capacidade bombeadora do coração insuficiente. A função sarcomérica é determinada pelos níveis de expressão de diferentes isoformas e por modificações pós-traducionais (como a fosforilação) das proteínas sarcoméricas (Hamdani et al., 2008).

O filamento grosso do sarcómero é composto por duas *cadeias pesadas de miosina* (MHC, do inglês *myosin heavy chain*) e dois pares de cadeias leves (MLC, do inglês *myosin light chain*). Uma das principais mudanças de isoforma detetadas nos ventrículos hipertrofiados e insuficientes é a substituição das cadeias pesadas rápidas (α -MHC) por cadeias pesadas lentas (β -MHC). A magnitude desta mudança depende da quantidade de α -MHC endógena, a qual é específica de cada espécie (Hamdani et al., 2008). Em todos os mamíferos, a β -MHC expressa-se nos ventrículos embrionários/fetais. Nos pequenos mamíferos desaparece precocemente após o nascimento estando, aproximadamente às três semanas de vida, substituída exclusivamente pela isoforma α ; já na fase adulta, a forma β volta a expressar-se, passando a constituir 10 a 15% das MHC. Nos mamíferos maiores, como o coelho, cão, porco e homem, a β -MHC permanece a isoforma ventricular dominante durante a vida adulta (Machackova, Barta & Dhalla, 2006). Um estudo demonstra que, na insuficiência cardíaca induzida por *pacemaker* em cães, a isoforma β -MHC se encontra significativamente aumentada no átrio e aurícula direitos, átrio e aurícula esquerdos e no ventrículo direito em comparação com os controlos (Fuller, Bicer, Hamlin, Yamaguchi & Reiser, 2007). É nas MHCs que se localiza o local de hidrólise do ATP e são, deste modo, importantes determinantes da taxa de consumo energético e da velocidade de contração do sarcómero. Estudos *in vitro* demonstram que a α -MHC tem uma atividade de ATPase e uma velocidade de deslizamento pelo filamento de actina mais altos comparativamente à isoforma β . Esta última é 3 a 5 vezes mais económica mas está associada com um *power output* e uma velocidade de encurtamento reduzidos em relação à isoforma α . A variação na distribuição das isoformas das MHC nas diferentes idades, e a expressão

heterogénea das mesmas em diferentes regiões da parede ventricular dificultam a definição dos efeitos destas alterações na função sarcomérica, porém estudos demonstram que mesmo pequenas mudanças têm impactos significativos na contratilidade dos cardiomiócitos. Deste modo, o aumento das β -MHCs em relação às α -MHCs pode ser benéfica em situações patológicas na medida em que requerem menos energia para a manutenção da função de bomba do coração em repouso, embora à custa da velocidade de contração e do *power output*, que se vêem reduzidos (Hamdani et al. 2008; Machackova et al. 2006).

Um estudo demonstrou que uma infusão prolongada do ativador da miosina cardíaca omecantiv mecarbamil, em contraste com os agentes inotrópicos mais comumente utilizados (catecolaminas, sensibilizadores do cálcio) que mostram geralmente dessensibilização e aumento do consumo de oxigénio miocárdico, produziu uma melhoria substancial na função do ventrículo esquerdo na IC sistólica sem dessensibilização ou alteração no consumo de oxigénio. Mesmo quando a IC sistólica foi desenvolvida na presença de hipertrofia ventricular esquerda (HVE) grave, o omecantiv mecarbamil melhorou a função sistólica e reduziu a pré-carga sem alteração no consumo de oxigénio pelo miocárdio (Shen et al., 2010).

Também o padrão de expressão das cadeias leves de miosina do coração pode sofrer alterações, nomeadamente nas chamadas cadeias leves de miosina essenciais (ou MLC-1). Ocorrem em duas isoformas, uma atrial (ALC-1) e uma ventricular (VLC-1). A primeira expressa-se em todo o músculo cardíaco durante a vida fetal, sendo posteriormente substituída pela última. A maioria dos pacientes humanos com cardiomiopatia hipertrófica e doença cardíaca congénita expressam nos seus ventrículos ALC-1, em substituição da VLC-1 (Abdelazziz et al. 2005). Esta substituição revela efeitos positivos na dinâmica de contração e aumenta o desenvolvimento isométrico de força em preparações ventriculares (Hamdani et al. 2008; Machackova et al. 2006). Está, além disso, correlacionada com aumento nos parâmetros contráteis ventriculares em ratas transgénicas com sobre-expressão cardíaca da ALC-1 (Abdelazziz et al. 2005).

Também o *estado de fosforilação* de proteínas sarcoméricas, nomeadamente da troponina cardíaca I (cTnI) é um importante determinante da função sarcomérica, tanto em corações saudáveis como doentes. Sob estimulação β -adrenérgica, a fosforilação da cTnI mediada pela proteína cinase A (PKA) está associada a uma redução da sensibilidade do miofilamento ao cálcio. Uma vez que o estímulo β -adrenérgico se encontra reduzido em situações de insuficiência cardíaca (devido à redução da expressão e dessensibilização dos adrenoreceptores) a fosforilação da cTnI pela PKA poderá ser menos pronunciada. De facto, comparando com miócitos de dadores saudáveis (humanos), verificou-se que a sensibilidade ao cálcio era significativamente maior em pacientes com cardiomiopatias. Um aumento similar da sensibilidade foi também observado em vários modelos animais de insuficiência cardíaca.

Verifica-se, assim, que as alterações na estimulação β -adrenérgica e as concomitantes alterações na fosforilação da cTnI pela PKA prejudicam a função do sarcômero. O aumento a sensibilidade ao cálcio pode contribuir para a disfunção diastólica devido ao relaxamento inadequado do miocárdio insuficiente (Hamdani et al. 2008; Machackova et al. 2006). A comparação de pacientes com insuficiência cardíaca diastólica (ICD) e sistólica revelou um aumento no desenvolvimento de força passiva nos primeiros comparativamente aos segundos. Estava presente uma significativa correlação positiva entre a pressão diastólica final do ventrículo direito e a força passiva, indicando que a rigidez do cardiomiócito contribui para as altas pressões de enchimento na ICD. A força passiva aumentada do cardiomiócito foi corrigida, aquando da incubação com PKA, para valores observados em corações com uma fração de ejeção preservada e uma LVEDP (pressão diastólica final do ventrículo esquerdo) normal, o que é indicativo de hipofosforilação das proteínas sarcoméricas (Hamdani et al. 2008).

Além da acima referida, outras vias de sinalização poderão estar envolvidas nas alterações da fosforilação de proteínas sarcoméricas. É o caso da proteína cinase C (PKC), cujos níveis de atividade e expressão estão aumentados na insuficiência cardíaca, sendo que quer a cTnI, quer a cTnT têm sítios específicos de fosforilação pela PKC. A investigação realizada em roedores indica um papel central da cTnI e da cTnT na redução do desenvolvimento máximo de força pelo miofilamento e mostram que aquela cinase (PKC) reduz a sensibilidade do miofilamento ao cálcio. Em geral, os dados confirmam que esta alteração de sensibilidade pode ser atribuída à fosforilação alterada, enquanto as alterações na capacidade de geração de força se devem provavelmente à ação permissiva de outras proteínas sarcoméricas (Hamdani et al. 2008).

Foi também registado um aumento dos níveis da proteína cinase D (PKD) na insuficiência cardíaca. Esta cinase pode ser ativada de duas formas: via fosforilação pela PKC ou diretamente, através da estimulação de recetores, por exemplo pela endotelina-1. Foi também demonstrado que a PKD é capaz de reduzir a sensibilidade do miofilamento ao cálcio via fosforilação de sítios para a PKA na cTnI (Hamdani et al. 2008; Machackova et al. 2006).

Verifica-se um aumento da sensibilidade do miofilamento ao Ca^{2+} quer na IC humana quer em vários modelos animais de IC experimental. Em contraste, uma redução desta sensibilidade verificou-se em modelos de roedores de IC por ligação transaórtica (TAB) e enfarte miocárdico. Esta aparente contradição pode ser explicada, por um lado, pelo possível nível diferente de estimulação neurohormonal à altura da colheita do tecido. Por outro lado, há que ter em conta que existe um intrincado equilíbrio entre as atividades de cinase e de fosfatase no cardiomiócito. Quer a PKA quer a PKC podem alterar o estado de fosforilação das proteínas indiretamente através da fosforilação do inibidor de fosfatase de proteínas (I-1). A PKA suprime a atividade da fosfatase de proteína 1 (PP-1), enquanto a PKC a aumenta via fosforilação da I-1. Um

aumento na fosforilação pela PKC com uma redução da fosforilação pela PKA do I-1 irá reforçar a atividade da fosfatase de proteína 1 (PP-1), o que induz a hipofosforilação das proteínas sarcoméricas (Hamdani et al. 2008).

2.2.3.4. Matriz extracelular/fibrose intersticial

O processo de remodelação do miocárdio envolve, além da hipertrofia, disfunção e morte dos cardiomiócitos, um aumento da deposição e alteração da ECM cardíaca, que é frequentemente designada pelo termo demasiado simplista de *fibrose miocárdica*.

Até recentemente, o estudo da biologia da IC centrava-se principalmente na disfunção miocítica, já que se considerava a ECM um suporte relativamente inerte para os miócitos e vasos sanguíneos cardíacos. Porém, torna-se cada vez mais claro que a ECM cardíaca é uma entidade dinâmica e metabolicamente ativa que desempenha por si mesma um papel importante na progressão da IC (Miner & Miller, 2006).

Ao contrário do que o termo fibrose possa sugerir, o processo de remodelação da ECM cardíaca não é passivo e inespecífico; trata-se de um processo ativo que ocorre de forma muito distinta em diferentes etiologias de IC (Miner & Miller, 2006).

O miocárdio é composto por miócitos cardíacos envolvidos por uma densa rede de colagénio. Os miócitos constituem 70 a 75% do miocárdio em termos de volume celular mas apenas 25 a 30% em termos de número de células. O tipo celular mais abundante são os fibroblastos, os quais produzem várias proteínas da ECM, incluindo os colagénios fibrilares tipo I e III, que constituem a maioria da ECM, assim como colagenases, fibronectina e vitronectina (Miner & Miller, 2006).

Fibras espiraladas da ECM armazenam a energia produzida durante a sístole, contribuindo para o realongamento dos miócitos durante a diástole. Em estádios iniciais da doença cardíaca, o aumento na deposição de colagénio extracelular auxilia a manutenção de um débito cardíaco adequado. Acaba, porém, por se tornar maldaptativo: ao contribuir para a rigidez da parede ventricular, prejudica a complacência cardíaca, contribuindo assim para a disfunção diastólica; uma vez que a ECM e os fibroblastos não contribuem para a contração sistólica, o aumento destes componentes leva a que o trabalho sistólico seja levado a cabo por uma menor proporção da massa cardíaca, o que contribui para a disfunção sistólica; a fibrose intersticial aumenta também a distância que o oxigénio tem que percorrer por difusão, reduzindo potencialmente a PaO₂ para os miócitos em funcionamento; além disso, a união elétrica entre os cardiomiócitos

pode ser prejudicada pela acumulação de proteínas e fibroblastos, que causa separação morfológica entre os miócitos (Schnee & Hsueh, 2000).

A remodelação da ECM é regulada por vários factores moleculares e, até certo ponto, hemodinâmicos e mecânicos (Miner & Miller, 2006).

A *aldosterona*, mineralocorticoide endógeno, promove a retenção de sódio e água e a excreção do potássio, funcionando como componente chave do sistema renina-angiotensina-aldosterona. Os seus níveis encontram-se elevados na IC e relacionam-se com o aumento da taxa de mortalidade. Além dos efeitos desta molécula a nível hemodinâmico e eletrolítico, estudos *in vitro* mostram que, a níveis fisiológicos, a aldosterona estimula a síntese de colagénio e altera a proporção de tipos de colagénio sintetizados por fibroblastos de cultura. Num modelo *in vivo* (ratazana), foi provocada fibrose cardíaca e hipertensão grave por uma dieta alta em sódio e infusão contínua de aldosterona. A retirada do sódio ou a administração de doses de espironolactona que não afetariam a pressão sanguínea reduziram marcadamente a extensão da remodelação da ECM. Deste modo, parece provável que a aldosterona promova diretamente alterações da ECM (Miner & Miller, 2006).

A *angiotensina II* aparenta promover, *in vitro*, a proliferação dos fibroblastos cardíacos, a síntese de colagénio e a expressão de recetores de adesão fundamentais para a remodelação da matriz. Tal como no caso da aldosterona, os efeitos diretos desta molécula sobre a ECM são difíceis de demonstrar *in vivo* devido à existência de efeitos hemodinâmicos concomitantes. Verifica-se, porém, que, em animais a quem foram induzidas alterações fibróticas no miocárdio através de infusão de angiotensina II ou sobre-expressão transgénica da mesma, a normalização da pressão sanguínea não melhorou o estado de fibrose (Miner & Miller, 2006). Foi, além disso, demonstrado, que o enalapril é mais eficaz a impedir a progressão da IC que o tratamento com hidralazina mais isosorbida (terapia antihipertensora) apesar de a resposta a ambos os tratamentos ser semelhante em termos de pressão sanguínea (Schnee & Hsueh, 2000).

Embora a maioria da angiotensina II circulante seja produzida via ECA, é importante ter também em conta a via de produção dependente da *quimase*, uma enzima libertada aquando da ativação dos mastócitos. Estes últimos são encontrados em grande quantidade no tecido cardíaco insuficiente e foi demonstrado que produzem a maioria da angiotensina II cardíaca do ventrículo esquerdo insuficiente. Estudos em ratos e cães confirmaram o papel da inibição da quimase na proteção contra a progressão da insuficiência e fibrose cardíacas (Miner & Miller, 2006). Algo contraditoriamente, um outro estudo demonstrou que a inibição crónica da quimase não previne a remodelação da ECM ou dilatação do VE no cão com regurgitação da mitral, mas preserva a fosforilação da fibronectina e da FAK do VE, o que atenua significativamente a degeneração miofibrilar e melhora a função dos cardiomiócitos (Pat et al., 2010).

Alguns dados mostram que a angiotensina II exerce os seus efeitos remodeladores na ECM através do aumento da produção de endotelina (Miner & Miller, 2006).

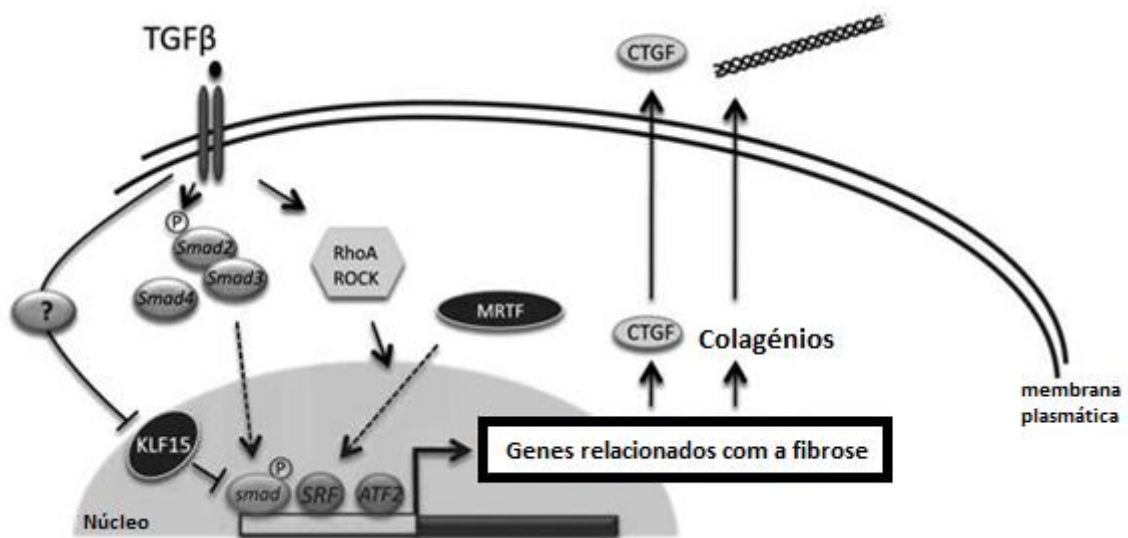
As *endotelinas* constituem um grupo de péptidos que se situam entre os vasoconstritores conhecidos mais potentes, sendo a endotelina-1 a isoforma principal expressa no tecido cardíaco. A sua expressão parece ser aumentada pelo *stress* mecânico, pela hipoxia, pela adrenalina, pela angiotensina II como já referido, e por várias citocinas. Além dos efeitos vasoconstritores, tem efeitos profibróticos bem descritos em tecidos não cardíacos. Verifica-se também que existem recetores para a endotelina nos fibroblastos cardíacos e que a administração da mesma aumenta a produção de colagénio em fibroblastos de ratazana. Num modelo experimental de enfarte miocárdico *in vivo*, a administração de um antagonista da endotelina em doses que não afetam a pressão sanguínea reduziu significativamente a acumulação de colagénio na ECM, sugerindo uma ação direta daquela molécula na produção de fibrose da matriz (Miner & Miller, 2006). Infelizmente, os estudos realizados até à data acabaram por não mostrar vantagens no uso de antagonistas da endotelina como terapêutica da IC (Handoko, Man & Von-Noordegraf, 2011).

A ativação do SNS que ocorre na IC resulta na libertação de *catecolaminas*, noradrenalina dos terminais nervosos simpáticos e adrenalina da medula adrenal. Os níveis de catecolaminas, elevados em pacientes com IC, correlacionam-se com o prognóstico. Embora esta reação contribua para suportar inicialmente a função cardiovascular, é atualmente claro que o uso a longo prazo de β -bloqueadores reduz os sintomas e melhora a sobrevivência na IC. Estes benefícios devem-se, não só à redução do ritmo cardíaco e pressão sanguínea, como à redução da progressão na remodelação da ECM. Não é claro se a noradrenalina tem um efeito direto na síntese de colagénio *in vivo*; é possível que esta leve à indução de factores de crescimento como o TGF- β_1 (*transforming growth factor*), que são potentes mediadores da fibrose. Em modelos animais, a infusão de isoproterenol, agente β -adrenérgico que não causa elevação da pressão sanguínea, leva ao aumento da deposição de colagénio que aparenta rodear os miócitos, possivelmente interferindo com a sua função normal (Miner & Miller, 2006).

O factor de necrose tumoral α (TNF – *tumor necrosis factor*) é uma citocina cujas ações se relacionam com a remodelação tecidual, estímulo à produção de moléculas de adesão e recrutamento de células inflamatórias. Esta molécula é produzida pelo coração insuficiente e aparentemente contribui para a progressão da doença devido aos seus efeitos inotrópicos negativos e à sua contribuição para a remodelação patológica. Não obstante, até à data, não foram demonstrados benefícios do uso de antagonistas do TNF- α na IC (Miner & Miller, 2006). O TGF β_1 é uma citocina mediadora de várias afeções fibróticas importantes de vários sistemas orgânicos. Além disso é reconhecidamente um dos principais mediadores da remodelação da

ECM cardíaca. É normalmente produzido a níveis reduzidos no tecido cardíaco. Quando existe lesão miocárdica, o TGF- β_1 é libertado em grandes quantidades pelos miócitos danificados, pelos fibroblastos e pelos linfócitos e macrófagos infiltrantes. Experiências *in vitro* revelam que esta citocina atua de forma autócrina/parácrina estimulando a produção e deposição de colagénio e fibronectina na ECM, como ilustra a figura 4. Uma vez que a sua produção é aumentada pelas infusões experimentais de angiotensina II e norepinefrina, o TGF- β_1 pode ser o mediador final comum da fibrose cardíaca por diferentes vias neuroendócrinas (Miner & Miller, 2006).

Figura 4 - Esquema simplificado das cascatas sinalizadoras pró-fibróticas do fibroblasto cardíaco. O TGF β desencadeia múltiplas vias de sinalização nos fibroblastos cardíacos. Quando o TGF β se liga ao seu recetor, as Smads são fosforiladas e translocadas para o núcleo, onde agem como fatores de transcrição. O TGF β também promove a translocação nuclear do MRTF-A, um potencial ativador transcripcional do SRF através da via de sinalização Rho/ROCK. Em conjunto, as Smads, o SRF e o ATF induzem a transcrição de uma série de genes relacionados com a fibrose. O KLF15 age como repressor da fibrose que é reduzido pela ação do TGF β . A perda de KLF15 reduz a repressão da transcrição, estimulando assim a expressão e secreção de genes da ECM e de fatores de crescimento como o CTGF, o MRTF-A, o fator de transcrição relacionado com a miocardina A. SRF: fator de resposta sérica (serum response factor); ATF2: fator de ativação de transcrição 2 (ATF2, activating transcription factor 2); CTGF: fator de crescimento do tecido conjuntivo (*connective tissue growth factor*) (Creemers & Pinto, 2011).



Estudos em animais demonstraram que os antagonistas do TGF β são efetivos no combate à IC por sobrecarga de volume. O bloqueio desta citocina com anticorpos neutralizantes preveniu a indução do mRNA do colagénio, a fibrose miocárdica e a disfunção diastólica. No entanto, dado que o TGF β é uma molécula com variadíssimas funções em todo o organismo, a sua inibição não é isenta de riscos. Poderá ser mais atrativo em termos terapêuticos considerar a inibição de moléculas mais a jusante na cascata de sinalização (Creemers & Pinto, 2011).

Outro grupo de moléculas que participa na remodelação miocárdica é constituído pelas metaloproteinases da matriz (MMP – *matrix metalloproteinases*), uma classe de 24

endopeptidases que é alvo de controlo regulatório por parte de um grupo de glicoproteínas designadas TIMPs (*tissue inhibitors of matrix metaloproteinases*) (Miner & Miller, 2006). Várias MMPs (MMPs 1, 2, 3, 9, 13 e 14), presentes no miocárdio, podem degradar os componentes da ECM cardíaca tais como os colagénios fibrilares (tipos I, II e III), a gelatina, a fibronectina, a laminina e a vitronectina. Em pacientes com IC, foram identificados níveis aumentados de MMP-2, MMP-3, MMP-9 E MMP-13 no miocárdio, tendo, além disso, sido demonstrada a existência de forte associação entre a indução de MMPs e a remodelação do ventrículo esquerdo (VE) (Takano, Hasegawa, Nagai & Komuro, 2003). Nem todas as metaloproteinases são, no entanto, responsáveis pela remodelação adversa do miocárdio; a inibição de largo espectro das mesmas produz, além da inibição da remodelação cardíaca, efeitos adversos no sistema musculoesquelético, enquanto a inibição seletiva mostrou benefícios a nível cardíaco com menos efeitos secundários no caso dos humanos (Miner & Miller, 2006). Todas as MMPs são inibidas por TIMPs específicos. Foram identificados quatro diferentes TIMPs (1, 2, 3 e 4) e foi demonstrado que se ligavam às MMPs ativadas segundo uma razão estequiométrica de 1:1. Vários estudos demonstraram o papel dos TIMPs no desenvolvimento da remodelação cardíaca. O TIMP-1 preveniu a ruptura cardíaca mas prejudicou a formação de cicatriz e a revascularização após enfarte miocárdico. Ratos com deficiência em TIMP-1 apresentaram aumento do VE e redução do colagénio fibrilar do miocárdio (Takano et al. 2003).

2.2.3.5. MicroRNAs

Os MicroRNAs (miRNAs) são RNAs não codificantes que emparelham com mRNAs alvo específicos regulando negativamente a expressão dos mesmos através de repressão traducional ou degradação. Não obstante, um aumento dos níveis de miRNAs também pode resultar em regulação positiva “paradoxal” de genes alvo anteriormente suprimidos. Isto acontece quer diretamente, ao reduzir a expressão de proteínas inibitórias e/ou fatores de transcrição, quer indiretamente, ao inibir os níveis de expressão de miRNAs inibitórios. Alternativamente, níveis reduzidos de expressão de miRNAs inibitórios podem levar diretamente ao aumento da expressão do gene alvo (Divakaran & Mann, 2008). Estas moléculas não funcionam como interruptores *on/off* decisivos, antes ajustam finamente os fenótipos celulares ao reprimir a expressão de proteínas inapropriadas para um tipo celular particular ou ajustando a dosagem proteica. Também foi proposto que os miRNAs forneçam robustez aos fenótipos celulares ao eliminar flutuações extremas na expressão genética (Rooij & Olson, 2007).

Uma das principais alterações ocorrentes no coração insuficiente é o aumento do tamanho celular (hipertrofia). Existem evidências de que vários miRNAs modulam componentes chave do *processo hipertrófico* dos cardiomiócitos, incluindo a reativação do chamado programa de genes fetais. Verifica-se que os níveis de miRNAs miR-1 e miR-133, que desempenham um papel importante na remodelação do coração aquando da cardiogénese, se encontram reduzidos em modelos de insuficiência cardíaca. Estudos de ganho de função e de perda de função envolvendo estes miRNAs sugerem que a regulação negativa dos mesmos permite o aumento da libertação de fatores de crescimento responsáveis pela hipertrofia cardíaca. Outros miRNAs candidatos ao envolvimento na hipertrofia cardíaca são miR-23a, -23b, 24, -195 e 214. Estas moléculas encontravam-se aumentadas em vários estudos em modelos animais de insuficiência cardíaca e provocaram hipertrofia quando transferidas para cardiomiócitos neonatais. A transferência de um outro miRNA, miR-199a, resultou em miócitos em forma de fuso, lembrando os cardiomiócitos alongados observados na cardiomiopatia dilatada. Dos miRNAs cujos níveis foram encontrados reduzidos nos estudos, o miR-150 e o miR-181b causaram uma redução do tamanho dos cardiomiócitos quando transferidos para estes (Divakaran & Mann 2008).

A cascata de eventos que se inicia com o potencial de ação cardíaco e termina com a contração e relaxamento do cardiomiócito designa-se emparelhamento excitação-contração (*excitation-contraction coupling*). Na IC em estádios finais, o coração apresenta contratilidade reduzida e relaxamento inadequado, processo que se julga ser secundário a alterações na abundância e/ou estado de fosforilação de proteínas reguladoras do cálcio. Outras alterações da função do miócito são presumivelmente derivadas de alterações nas ligações entre as proteínas contráteis miofibrilares (actina e miosina) resultantes das alterações de isoforma dominante. Observações experimentais sugerem que a molécula miR-208 é necessária para o desenvolvimento de hipertrofia cardíaca e fibrose miocárdica, sendo além disso um regulador positivo da expressão do gene da β MHC (Divakaran & Mann 2008).

A perda progressiva de miócitos secundária à *apoptose* que ocorre no coração insuficiente contribui para as progressivas disfunção e remodelação do VE. A regulação sinérgica de proteínas pro e antiapoptóticas em resposta a sinais de *stress* levanta a possibilidade de que os miRNAs possam estar envolvidos na regulação da morte celular programada. O miR-21 é uma molécula cujos níveis se encontram elevados em diversas neoplasias, tendo sido proposto como um potencial miRNA antiapoptótico; de facto, a proteína antiapoptótica Bcl-2 é um alvo indireto desta molécula. Foi demonstrado que os seus níveis se encontram também aumentados 2 a 4 vezes no coração após TAB. Considera-se que o seu aumento pode representar uma resposta pro-sobrevivência ao *stress* derivado da sobrecarga hemodinâmica de pressão. Os miR-

1 e miR-133 têm, presumivelmente, papéis opostos no que respeita à regulação da apoptose. Foi demonstrado que a sobre-expressão do miR-1 em mioblastos de ratazana provocou morte celular apoptótica, a qual foi parcialmente resgatada pelo tratamento com miR-133. Os autores postularam que os níveis relativos de miR-1 e miR-133 poderão determinar o destino da célula. É de notar que os níveis de miR-1 se encontram elevados na doença coronária e no miocárdio isquémico, afeções nas quais a apoptose é um importante modo de morte celular (Divakaran & Mann 2008).

A perfusão adequada do miocárdio é essencial para manter a viabilidade dos miócitos. No coração insuficiente, sujeito a elevadas pressões de enchimento, a perfusão subendocárdica encontra-se geralmente comprometida. A regulação inapropriada da *angiogénese* nesta situação pode resultar em isquémia com perda subsequente de cardiomiócitos e /ou fibrose intersticial, contribuindo assim para a progressiva disfunção miocárdica. Foram identificados vários miRNAs pro e antiangiogénicos que têm como alvo proteínas envolvidas na formação de tubos endoteliais e na proliferação, migração e apoptose de células endoteliais. Embora muitos destes miRNAs tenham sido identificados em tecido neoplásico, podendo não ser relevantes para a fisiologia do miocárdio, dois estudos recentes implicaram o miR-126 na angiogénese e regulação da integridade vascular (Divakaran & Mann 2008).

A *alteração da ECM* constitui, como já vimos, outra importante componente do processo de remodelação cardíaca. Como foi mencionado acima, o miR-208, um miRNA específico do coração, é requerido para o processo de fibrose cardíaca em resposta à sobrecarga hemodinâmica de pressão. A regulação dinâmica da família de miRNAs miR-29, composta por três membros (miR-29a a c), pode também contribuir para o desenvolvimento da fibrose miocárdica. Foi observado que os níveis de miR-29 se encontravam reduzidos em corações de ratos após sofrerem oclusão aguda da artéria descendente anterior esquerda assim como em corações de pacientes humanos. A redução induzida dos níveis de miR-29 levou à expressão do colagénio quer *in vivo* quer *in vitro*. A sua sobre-expressão em fibroblastos cardíacos isolados reduziu os transcritos de colagénio (Divakaran & Mann 2008).

No que respeita à *ativação neurohormonal*, foi demonstrado que a angiotensina II aumenta o nível de expressão de miR-21 nas células adrenais humanas. Além disso, a sobreexpressão deste miRNA leva ao aumento da secreção de aldosterona e da proliferação nestas células. Embora se refira a um tipo celular fora do coração, este estudo chama a atenção para a possibilidade de os níveis de miRNAs em tecidos não cardíacos poderem influenciar a remodelação daquele órgão, neste caso através da desregulação da sinalização mediada pela angiotensina II e aumento da secreção de aldosterona (Divakaran & Mann 2008).

Além da remodelação mecânica há, no coração insuficiente, importantes alterações a nível dos *canais iónicos* que tornam o coração mais susceptível a arritmias que podem mesmo resultar em morte súbita. Os canais HCN são canais catiónicos activados pela hiperpolarização (*Hyperpolarization-activated Cyclic Nucleotide-gated*) que são permeáveis ao Na^+ e ao K^+ . Foi sugerido que a sua regulação positiva poderia contribuir para o aumento das arritmias na IC. A redução dos níveis de miR-1 e miR-133 foi associada com níveis aumentados de canais HCN2/HCN4 em corações hipertróficos. Além disso, verifica-se que os níveis de miR-1 e miR-133 se encontram reduzidos em modelos experimentais de IC (Divakaran & Mann 2008).

O conhecimento e compreensão dos padrões de expressão dos miRNAs poderá ajudar à criação de futuras estratégias terapêuticas dirigidas às causas fundamentais da IC, sendo possível que alguns dos miRNAs se tornem, eles mesmos, num alvo terapêutico. Recentemente foram desenvolvidos oligonucleótidos designados “antagomirs” que provaram ser silenciadores específicos e eficientes de miRNAs endógenos em ratos, embora o seu mecanismo de ação exato seja ainda desconhecido (Thums, Catalucci & Bauersachs, 2008). Além disso, o perfil de expressão dos miRNAs em leucócitos e/ou tecido miocárdico poderá ajudar a definir estratégias terapêuticas personalizadas para os pacientes com IC (Divakaran & Mann 2008).

2.2.3.6 Alterações da função elétrica

O potencial de ação (PA) ventricular, gerado pelo movimento de correntes iónicas através de vários canais, bombas e trocadores seletivos e com características específicas, produz o acoplamento eletromecânico necessário à função de bomba do coração. A duração do PA depende do equilíbrio entre as correntes iónicas despolarizantes (para dentro) e repolarizantes (para fora) que ocorrem na fase de *plateau* (Winckels, 2007).

O potencial de repouso dos miócitos atriais e ventriculares durante a fase 4 do PA (fase de repouso) é estável e negativo devido à alta condutância dos canais I_{K1} ao K^+ . Aquando da excitação por impulsos eléctricos das células adjacentes, os canais de Na^+ (sódio) são ativados (abertos) permitindo uma corrente de Na^+ para dentro, o que origina a fase 0 do PA (início da despolarização). Segue-se a fase 1 (repolarização precoce) levada a cabo pela corrente de K^+ (potássio) transitória para fora (I_{to}). A fase 2 (*plateau*) representa um equilíbrio entre a corrente de Ca^{2+} (cálcio) despolarizante para dentro (I_{CaL}) e as correntes de K^+ repolarizantes retificadoras para fora ultra-rápida (I_{Kur}), rápida (I_{Kr}) e lenta (I_{Ks}). A fase 3 (repolarização) reflete a predominância das correntes retificadoras retardadas para fora depois da inativação dos canais

de Ca^{2+} tipo L (LTCC – *L type calcium channel*). A repolarização final durante a fase 3 é devida ao efluxo de K^{+} através dos canais I_{K1} (Amin, Tan & Wilde, 2010).

Diferentemente dos miócitos atriais e ventriculares, as células dos nodos SA e AV apresentam despolarização lenta durante a fase 4 (de repouso). Isto deve-se principalmente à ausência da corrente I_{K1} , o que permite que as correntes para dentro (como a corrente *pacemaker* I_{f}) vão despolarizando a célula. Esta despolarização lenta durante a fase 4 inativa a maioria dos canais de Na^{+} , reduzindo a sua disponibilidade para a fase 0. Assim, nos miócitos dos nodos SA e AV, o PA não tem fase de *plateau* e a despolarização deve-se principalmente às correntes de Ca^{2+} I_{CaL} e I_{CaT} (corrente de cálcio tipo T) (Amin et al. 2010; Michael, Xiao, Qi, Dobrev & Nattel, 2009).

A duração do PA (DPA) encontra-se consistentemente aumentada em variados modelos animais e pacientes humanos com hipertrofia ventricular e/ou IC. Numa tentativa de explicar esta alteração, a análise das correntes repolarizantes de K^{+} é um ponto de partida lógico (ver figura 5) (Tomaselli & Marbán, 1999; Winckels, 2007).

De facto, a função de várias destas correntes encontra-se alterada nos casos de HVE/ICC (insuficiência cardíaca congestiva). A observação mais consistente em grandes mamíferos é uma redução na densidade da corrente I_{K} *retificadora retardada*, a corrente dominante na repolarização da célula. Esta corrente pode ser dividida em duas componentes, uma lenta (I_{Ks}) e uma rápida (I_{Kr}). Verifica-se que, no VE de coelhos e cães, a I_{Ks} se encontra reduzida, o que pode contribuir para aumento da DPA, enquanto a I_{Kr} se encontra umas vezes reduzida e outras inalterada (Winckels, 2007; Amin et al. 2010). Em particular, a expressão da I_{Ks} é heterogénea ao longo do coração e na parede miocárdica e assim a redução nesta corrente pode levar a uma dispersão heterogénea da refratoriedade, criando um substrato para arritmias reentrantes (Michael et al. 2009).

Também foi demonstrada remodelação a nível de outras correntes de K^{+} . Nomeadamente a corrente I_{to} (*transient outward*), responsável pela repolarização precoce, apresentava-se, nos casos de ICC, geralmente reduzida quer em modelos animais quer em pacientes humanos, embora se possa apresentar aumentada na fase hipertrófica que precede a insuficiência cardíaca. Esta é uma corrente transitória e, como tal, a sua redução pode não produzir por si só grandes efeitos na DPA, especialmente em grandes mamíferos como o cão; não obstante, influencia profundamente a fase 1 e o nível do *plateau*, afetando assim todas as correntes que estão ativas mais tarde durante o potencial de ação (Tomaselli & Marbán, 1999, Winckels, 2007; Amin et al. 2010).

Os resultados mostraram-se menos consistentes no que respeita à corrente retificadora “para fora” I_{K1} , a qual contribui para a fase terminal de repolarização e mantém o potencial de membrana em repouso. Em geral, pacientes humanos e modelos animais com ICC mostram uma redução desta corrente ou ausência de alterações. Num estudo em coelhos mostrou a densidade desta corrente seguindo um curso bifásico, estando reduzida após 3 meses de HV mas não mostrando alterações em relação aos controlos após 6 meses. A redução da I_{K1} pode desencadear arritmias ao permitir que as correntes para dentro (despolarizantes), não sendo já contrabalançadas pelos efeitos desta forte corrente para fora, vão despolarizando a membrana durante a fase 4. Esta despolarização induz arritmia ao facilitar a excitabilidade espontânea. Em alternativa, a redução da I_{K1} pode desencadear arritmia ao prolongar a DPA, o que leva à ocorrência de EADs (*Early After-Depolarizations*) (Winckels, 2007).

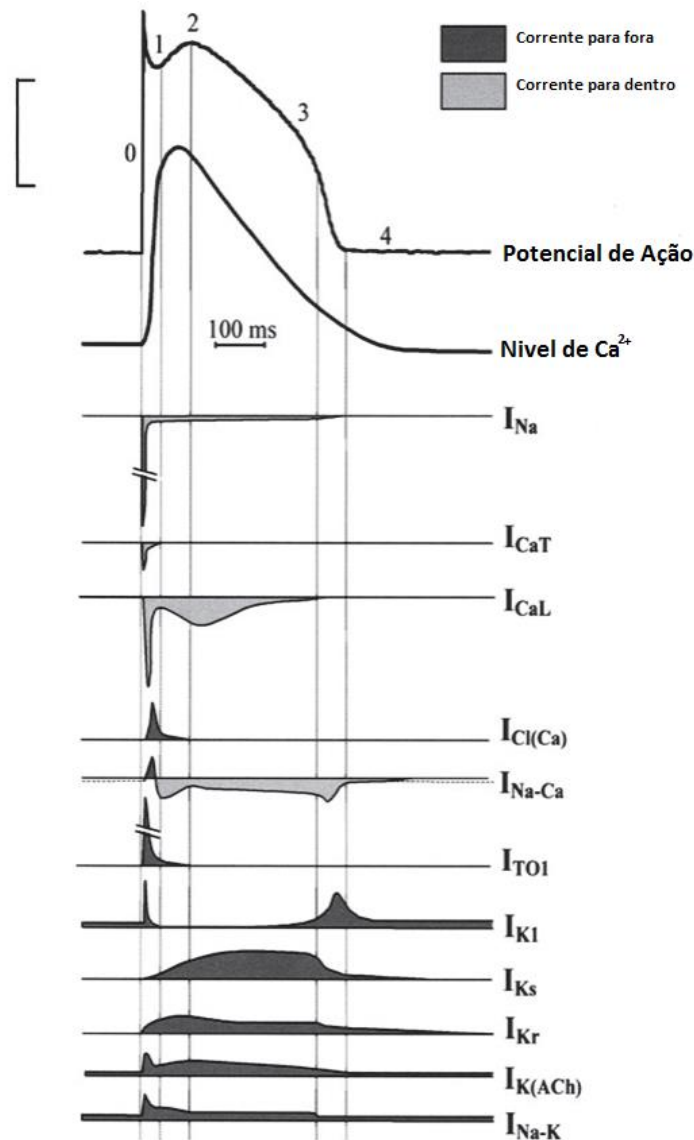
Em geral, a redução nas correntes de K^+ pode promover a ocorrência de EADs, quer pelo prolongamento da DPA no intervalo de voltagens no qual a reativação da I_{CaL} gera pós-despolarizações, quer ao reduzir a *reserva de repolarização*. Este termo, reserva de repolarização, refere-se à capacidade dos cardiomiócitos para compensar a perda de uma corrente repolarizante recrutando outras correntes para fora, minimizando assim o défice de repolarização (Nattel, Maguy, Bouter & Yeh, 2007; Reuter et al. 2005).

O pico da corrente de Na^+ despolarizadora I_{Na} apresenta-se reduzido em vários modelos animais de ICC. Verifica-se também que o componente tardio desta corrente (I_{NaL}) se encontra aumentado na ICC, podendo esta última alteração contribuir para o prolongamento da DPA. Esta condução mais lenta favorece o fenómeno de reentrada, conduzindo a uma contração dissinérgica e ineficaz. Adicionalmente, a inativação da I_{Na} promove EADs arritmogénicas (Nattel et al. 2007, Winckels, 2007; Amin et al. 2010).

A corrente *pacemaker* ou *funny* (I_f), assim chamada devido às suas propriedades de funcionamento invulgares, permite o início espontâneo da atividade elétrica cardíaca. Trata-se de uma corrente mista de Na^+/K^+ que se ativa lentamente aquando da hiperpolarização e se inativa lentamente de forma independente da voltagem aquando da despolarização. A I_f conduz uma corrente para dentro durante as fases 3 e 4 e pode ser responsável pela despolarização lenta nas células com atividade de *pacemaker*. A ativação desta corrente é acelerada quando os níveis intracelulares de adenosina monofosfato cíclica (cAMP) se encontram aumentados. Assim, a I_f é mediadora na regulação da frequência cardíaca pelas atividades simpática e parassimpática, as quais controlam, respectivamente, a síntese e a degradação da cAMP. É de acordo com isto que os canais responsáveis por esta corrente se designam HCN. Estes canais são expressos preferencialmente nos nodos SA e AV e nas fibras de Purkinje. Na IC, são encontrados níveis aumentados de RNA e proteínas dos canais HCN nos miócitos ventriculares, assim como

maiores amplitudes de I_f . Isto pode iniciar arritmias ao desencadear excitação espontânea em miócitos não *pacemaker* (Amin et al. 2010).

Figura 5 - Apresentação esquemática das correntes despolarizantes e repolarizantes que dão forma ao potencial de ação num ventrículo normal de mamífero. É mostrado um esquema da duração de cada uma das correntes juntamente com a alteração nos níveis do cálcio. (Winckels, 2007).



O Ca^{2+} é um íon particularmente importante no que toca à atividade elétrica do coração e, como tal, vale a pena aprofundar a fisiologia do seu manejo e suas alterações na doença cardíaca. A principal reserva de Ca^{2+} no miócito é o retículo sarcoplasmático; quantidades muito menores provêm das mitocôndrias e da membrana plasmática através de canais específicos. Durante a despolarização celular, uma pequena quantidade de Ca^{2+} entra no cardiomiócito através dos canais de cálcio tipo L. Este influxo (corrente I_{CaL}), dentro das correntes de Ca^{2+} , é o mais importante para dentro da célula durante a fase de *plateau*. Embora não se observem reduções

nesta corrente em modelos de coelho e cão de HV, ela pode apresentar-se reduzida em HV prolongada. Em modelos de ICC encontra-se reduzida ou sem alteração (Winckels, 2007). O Ca^{2+} que entra na célula por esta via desencadeia a libertação de maiores quantidades de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático (RS) através do canal designado *ryanodine recetor* (RyR)2. A proximidade dos RyR2 aos túbulos T permite que cada LTCC ative 4 a 6 RyR2s, gerando uma “faísca” de Ca^{2+} . Um agregado de aproximadamente 100 canais RyR2 e 25 LTCCs forma uma unidade funcional designada por *couplon*. O influxo de Ca^{2+} ativa sincronamente aproximadamente 10 000 *couplons* num miócito ventricular. O Ca^{2+} libertado do RS vai, então, ligar-se ao complexo troponina-C nos filamentos de actina-miosina, desencadeando assim a contração do sarcómero. O Ca^{2+} é depois rapidamente separado da molécula de troponina-C, para permitir que o sarcómero relaxe e se dê a diástole. Segue-se quer a reentrada do Ca^{2+} no RS pelo transportador SERCA2a, quer a sua remoção da célula através do NCX ($\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ *eXchanger*) da membrana plasmática, que troca um ião Ca^{2+} por três iões Na^+ . Todo o processo do movimento do Ca^{2+} é caracterizado por um aumento transitório da concentração intracelular de Ca^{2+} de 100nmol/L para 1µmol/L (Fuentes et al. 2010; Yano, Yamamoto, Kobayashi, Ykeda & Matsuzaki, 2008).

A eficiência do “disparo” (ou seja, o tamanho da corrente de Ca^{2+} para dentro da célula) necessário para causar a libertação de Ca^{2+} do RS é chamada ganho da ECC (*excitation-contraction coupling gain*). O ganho de ECC parece estar reduzido na IC devido a vários factores, nomeadamente: 1) defeito funcional dos LTCC; 2) alteração estrutural na relação entre os LTCC e os RyR2; 3) redução do conteúdo em Ca^{2+} do RS; 4) anomalia na função de canal do RyR2 (Eisner, Trafford, Díaz, Overend & O’Neill, 1998) Yano et al. 2008; Bito, Heinzel, Biesmans, Antoons & Sipido, 2008).

Na maioria dos tipos de IC o número de LTCC surge inalterado ou reduzido, embora estudos focados na atividade individual dos canais tenham revelado um aumento desta. Foi reportado um aumento quer na disponibilidade quer na probabilidade de abertura destes canais em corações humanos insuficientes, possivelmente devido a um defeito na desfosforilação. Portanto, embora a densidade de LTCC seja reduzida, a corrente é mantida pelo aumento do nível de fosforilação (Yano, Yamamoto et al. 2008; Nattel et al. 2007; Bito et al. 2008). Estudos revelaram que a perda de túbulos T se faz acompanhar de redução da densidade média de LTCCs e da correspondente corrente de Ca^{2+} , o que é consistente com uma localização preferencial dos LTCCs nos túbulos T. Em pacientes humanos com IC terminal, assim como em modelos experimentais, foram descritas alterações na organização estrutural dos túbulos T. Verificou-se que vários RyR2s já não se encontravam associados com os túbulos. Estes canais “órfãos” resultam numa perda de sincronia dos processos envolvidos na libertação do Ca^{2+} .

Deste modo, podem reduzir a eficiência da ECC durante a remodelação cardíaca (Bito et al. 2008).

Na IC o conteúdo de Ca^{2+} do RS encontra-se reduzido, embora a fração de Ca^{2+} libertado em relação ao sequestrado durante o *uptake* pareça estar aumentada. O aumento dos NCX e da atividade da SERCA2a são ambos atribuíveis a este reduzido conteúdo em Ca^{2+} (Yano et al. 2008).

No estado contrátil normal, um maior conteúdo em Ca^{2+} leva a que, para uma dada quantidade iniciadora de cálcio, uma maior fração do Ca^{2+} seja libertada do RS. Isto pode ser atribuído a um efeito estimulatório que a alta $[\text{Ca}^{2+}]$ (concentração de Ca^{2+}) intraluminal tenha na probabilidade de abertura do RyR2. Como o conteúdo em Ca^{2+} do RS está reduzido na IC, o conteúdo limiar de Ca^{2+} do RS para uma libertação fracional de Ca^{2+} pode estar reduzido, levando a maior susceptibilidade a libertações de Ca^{2+} aberrantes ou fuga de Ca^{2+} espontânea a menores concentrações citosólicas ou lumbais de Ca^{2+} cálcio. Os RyR2s encontram-se acoplados a proteínas na superfície luminal do RS (triadina, junctina e calsequestrina) que tamponam o Ca^{2+} cálcio luminal modulando o processo de libertação. Alterações funcionais e estruturais nestas proteínas podem estar envolvidas no desenvolvimento da regulação defeituosa da $[\text{Ca}^{2+}]$ intraluminal. A abertura dos canais RyR2 com hipersensibilidade à $[\text{Ca}^{2+}]$ citosólica pode contribuir para a presença de fuga espontânea de Ca^{2+} a um nível muito inferior de $[\text{Ca}^{2+}]$ citosólica que o verificado para um RS normal. Esta fuga é passível de induzir pós-despolarizações retardadas (*DADs-Delayed after-despolarizations*), as quais podem desencadear arritmias, levando a morte súbita (Yano et al. 2008; Bito et al. 2008).

Outra das proteínas reguladoras do RyR2, a FKBP12.6, desempenha um papel importante na estabilização do canal. A FKBP12.6 liga-se ao RyR2 num rácio estequiométrico de 1:1. Foi demonstrado que, na IC, ocorre hiperfosforilação da serina 2808 (Ser2808) do RyR2 pela PKA e isto, por sua vez, dissocia a FKBP12.6 do RyR2 levando a fuga diastólica de Ca^{2+} através do mesmo. A hiperfosforilação pela PKA pode ser mantida a longo prazo através da redução das PP1, PP2A e PDE4D3. Foi mostrado que a atividade individual dos canais se encontrava hipersensível à $[\text{Ca}^{2+}]$, devido a uma perda parcial de FKBP12.6 pelo RyR2, causando assim uma fuga de Ca^{2+} diastólica a uma $[\text{Ca}^{2+}]$ a que nenhum Ca^{2+} é libertado em corações normais. Não obstante, resultados contraditórios foram obtidos noutros estudos, gerando controvérsia quanto ao papel da hiperfosforilação da Ser2808 pela PKA (George, 2008, Bito et al. 2008.)

O RyR2 também pode ser fosforilado pela CaMKII, e isto ativa a sua abertura e a libertação de Ca^{2+} diastólica. Esta fosforilação parece ser benéfica para a ativação eficiente da libertação de Ca^{2+} do RS em cada batimento cardíaco, mas a sobreativação ou a ativação a longo prazo do

RyR2 pela CaMKII pode perturbar a função cardíaca resultando em IC (George, 2008, Bito et al. 2008; Nattel et al. 2007).

A ativação β -adrenérgica estimula a ação quer da PKA quer da CaMKII *in vivo* no entanto, não obstante a via estimulatória em comum, os cardiomiócitos discriminam funcionalmente os efeitos a jusante de cada uma das cinases, sendo que resultam, respetivamente, num aumento da taxa e da força de libertação do Ca^{2+} (George, 2008).

O estado de fosforilação do RyR2 reflete um equilíbrio entre a atividade das cinases e das fosfatases e, como tal, o estado de hiperfosforilação ligado à doença pode estar associado a uma redução na atividade das fosfatases além de hiperatividade das cinases. Por outro lado, também foi descrito que a hipofosforilação do canal provoca fuga de cálcio. Este aparente paradoxo pode ser explicado tendo em conta os dados que mostram que um aumento ou redução da fosforilação desde o ponto mais baixo do perfil de ativação do RyR2 (nível equivalente a 75% de fosforilação) ativam o canal através de diferentes mecanismos (George, 2008).

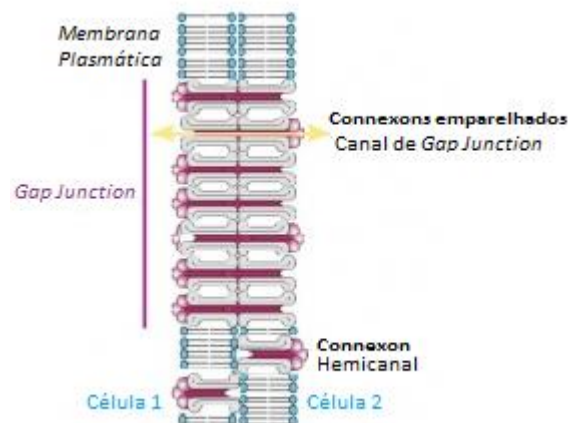
À medida que a frequência cardíaca se eleva devido ao aumento do tónus simpático, a concentração citosólica de Na^+ aumenta e, consequentemente, aumenta também o influxo de Ca^{2+} através do NCX, o que contribui para um aumento da contratilidade dependente da frequência. No coração insuficiente, esta resposta encontra-se enfraquecida pois a $[\text{Na}^+]$ intracelular já está elevada no nível basal e a $[\text{Ca}^{2+}]$ diastólica está elevada devido ao efeito combinado da redução da recuperação do cálcio pelo RS e o influxo de Ca^{2+} adicional através do NCX em modo reverso. Além disso, o influxo de Ca^{2+} aumentado durante a fase mais tardia do PA pode induzir DADs e desencadear arritmias. Está descrito um aumento da abundância de proteínas do NCX em corações insuficientes humanos e animais experimentais, embora em alguns casos não se tenham verificado modificações nos níveis das mesmas, facto que poderá dever-se a diferenças no estado e/ou severidade da IC (Yano et al. 2008; Michael et al. 2009). Este aumento pode ser interpretado como uma alteração compensatória da recuperação defeituosa de Ca^{2+} pelo RS, como se verá abaixo (Tomaselli & Marbán, 1999; Reuter et al. 2005). Um estudo demonstrou que a prática de exercício de resistência pode restaurar um nível mais normal de NCX em cães susceptíveis a fibrilhação ventricular, melhorando a regulação sistólica do Ca^{2+} e reduzindo assim o risco de morte súbita (Kukielka, Holycross & Billman, 2011).

Foi demonstrado que a atividade da SERCA2a se encontra reduzida no miocárdio insuficiente (Yano et al. 2008; Bito et al. 2008). A redução na recuperação de cálcio pelo RS na IC é afetada por uma reduzida razão entre a expressão de proteínas da *SERCA2a* em relação ao PLN (fosfolambano) e por alterações na fosforilação do mesmo. A SERCA 2a é inibida por PLN no

estado desfosforilado; quando este é fosforilado, a inibição que exerce na SERCA2a é eliminada. Está descrita uma redução da fosforilação do PLN pelas cinases PKA e CAMKII. A fosfatase PP1 pode estar também envolvida na alteração da fosforilação do PLN. A cinase PKC, ativada pelas vias de sinalização desencadeadas pela angiotensina II, endotelina e o sistema α -adrenérgico, cronicamente ativadas na IC, ao fosforilar a molécula I-1, inibidor endógeno da PP1, causa a hipofosforilação do PLN, levando assim a uma redução da atividade da SERCA2a (Yano et al. 2008; Bito et al. 2008; Tomaselli e Marbán, 1999).

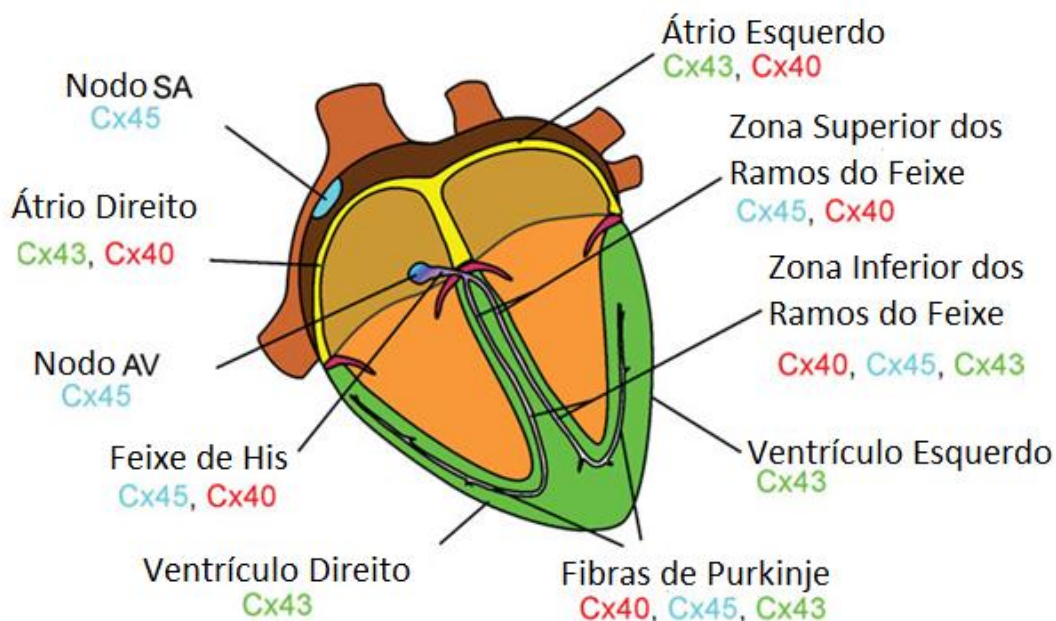
Um outro componente passível de contribuir para a remodelação elétrica do miocárdio é constituído pelas chamadas *gap junctions*, aglomerados de canais transmembranários constituídos por conexinas que formam vias de comunicação entre células. No coração, estas *gap junctions* mediam o acoplamento elétrico entre os miócitos permitindo a passagem da onda de despolarização entre células, o que permite a ocorrência de uma contração sincronizada. Cada canal é formado por um par de *connexons* (hemi-canais), um em cada uma das membranas plasmáticas justapostas, como ilustra a figura 6. O *connexon* abarca toda a profundidade da membrana e é constituído por seis moléculas de conexina (Severs, Bruce, Dupont & Rotery, 2008; Severs et al., 2004).

Figura 6 – Representação esquemática dos connexons nas *gap junctions* (adaptado de http://php.med.unsw.edu.au/cellbiology/index.php?title=2011_Group_5_Project)



Três conexinas principais são expressas nos miócitos cardíacos, a conexina43 (Cx43), a Cx40 e a Cx45. Embora a Cx43 predomine no coração como um todo, é tipicamente expressa juntamente com a Cx40 e ou a Cx45, em combinações e quantidades relativas características que variam consoante as câmaras cardíacas e o tipo de miócito, como mostra a figura 7 (Severs et al. 2008; Severs et al., 2004).

Figura 7 - Resumo dos padrões típicos de expressão das conexinas num coração de mamífero (Severs et al. 2008).



Os miócitos contráteis ventriculares encontram-se conectados por *gap junctions* que contêm conexina43 e estão organizadas em junções aderentes nos discos intercalados. Os miócitos atriais da maioria dos mamíferos, em contraste, têm junções constituídas por Cx43 e Cx40 que estão organizadas em discos intercalados menos demarcados (Severs et al. 2008).

Os miócitos responsáveis pela geração e condução do impulso elétrico têm um perfil de expressão de Cx diferente. Caracteristicamente, os miócitos dos nodos SA e AV têm *gap junctions* pequenas e dispersas compostas por Cx45, conexina que forma canais de baixa condutância *in vitro*. Estas características sugerem que há um acoplamento relativamente pobre, o que, no nodo AV, pode contribuir para reduzir a velocidade de condução do impulso assegurando a contração sequencial das câmaras cardíacas. Neste nodo há, aparentemente, um padrão complexo e compartimentalizado de expressão das conexinas. Por exemplo, uma reconstrução tridimensional do nodo AV de coelho revela que o nodo compacto e as células de transição expressam predominantemente Cx45; o feixe de His, as células nodais inferiores e a extensão posterior do nodo co-expressam Cx45 e Cx43. A jusante do feixe de His, a maioria dos mamíferos expressa predominantemente Cx40. A Cx43 torna-se abundante nas porções mais distais do sistema, enquanto a Cx45 é expressa continuamente desde o nodo AV até ao fim das fibras de Purkinje (Severs et al. 2008).

É cada vez mais geralmente aceite que as alterações na organização das *gap junctions* e na expressão das conexinas contribuem para uma condução anormal do impulso e consequente arritmia na doença cardíaca adquirida, em conjunto com a excitabilidade da membrana e a

arquitectura celular e tecidual. O acoplamento das *gap junctions* é determinado por vários fatores, tais como a quantidade e tipo de conexina expresso, o tamanho e distribuição das placas juncionais, a proporção de cada conexina em cada junção funcional, as propriedades dos canais individuais, e o estado de fosforilação das conexinas (Severs et al. 2008; Boengler, 2009).

A “lateralização” da conexina Cx43 é uma característica proeminente na zona limite de miócitos sobreviventes em volta do tecido cicatricial de enfarte no ventrículo humano, e um achado que precedeu as descrições deste fenómeno em modelos animais de enfarte agudo. Nestes casos, as *gap junctions* encontram-se dispostas lateralmente conetando células adjacentes e observa-se também a internalização de membrana com *gap junctions*, que se tornam assim não funcionais. Alterações semelhantes verificaram-se em alguns modelos de ratazana com hipertrofia ventricular, e foi demonstrado que se correlacionavam com velocidade de condução longitudinal reduzida, uma alteração potencialmente pro-arrítmica. Em casos de insuficiência cardíaca e hipertrofia compensada e não-compensada também se verificou a existência deste rearranjo das *gap junctions*, embora em áreas mais pequenas que aquelas na área limite do enfarte (Severs et al. 2008).

Além das alterações na organização das *gap junctions*, existe uma redução marcada nos transcritos e proteínas da Cx43 em pacientes humanos com ICC terminal. Esta redução na Cx43 é espacialmente heterogénea e desenvolve-se progressivamente ao longo do curso da doença (Severs et al. 2008).

Seria de esperar que esta redução na Cx43 resultasse inevitavelmente em condução mais lenta, tornando o ventrículo mais susceptível a arritmias de reentrada. No entanto, modelos teóricos e experimentais mostram que a propagação do potencial de ação pode falhar em células adequadamente acopladas se estas formarem uma grande massa recebendo uma quantidade limitada de corrente despolarizante de uma fonte pequena; nestas condições, a redução do acoplamento entre as células desta grande massa pode, na verdade, ultrapassar um bloqueio na condução. Deste modo, uma redução da Cx43 em magnitude suficiente para reduzir o acoplamento pode, na realidade, ser parte de uma resposta protetora que aumenta a segurança da condução no ventrículo doente (Severs et al. 2008).

No coração dos mamíferos, porém, existe uma grande quantidade de *gap junctions*, e modelos computadorizados predizem que mesmo reduções consideráveis no conteúdo em *gap junctions* fazem relativamente pouca diferença na velocidade de propagação. De facto, a magnitude de redução da Cx43 associada a morte súbita por arritmia em ratos *knock-out* restrito ao coração para esta molécula é da ordem dos 90%, muito maior que a média da redução observada em ventrículos insuficientes (50%). No entanto, há que ter em conta que a redução da Cx43 é heterogénea ao longo do coração, sendo que existem, de facto, zonas que ultrapassam aqueles

90% de redução, criando assim um substrato para arritmias de reentrada a níveis de redução geral nas *gap junctions* menos graves que aqueles preditos pelos modelos teóricos (Nattel et al. 2007; Severs et al. 2008).

No que respeita à expressão de outras conexinas, um estudo verificou uma expressão elevada de Cx45 no ventrículo insuficiente humano conjuntamente com a redução em Cx43, alterando assim o rácio Cx43:Cx45. Como ambas as conexinas se encontram misturadas no mesmo *conexon*/canal, este facto tem, potencialmente, efeitos substanciais nas propriedades dos canais. O aumento experimental daquele rácio por sobre-expressão da Cx45 em ratos transgénicos mostrou recentemente que faz aumentar a susceptibilidade à taquicardia ventricular e reduzir a comunicação intercelular através das *gap junctions* (Severs et al. 2008).

Já o papel da remodelação das *gap junctions* nas arritmias atriais ainda não se encontra bem estabelecido. Os resultados de diversos estudos em modelos animais e em humanos revelaram-se contraditórios. Além disso, o miocárdio atrial normal apresenta uma variação considerável na organização das *gap junctions*, tornando difícil avaliar qualquer lateralização ou heterogeneidade patológica (Severs et al. 2008).

Um estudo concluiu que o tratamento a curto prazo com neuregulina-1 β pode recuperar a insuficiência da função cardíaca de bomba em modelos experimentais (ratazana) de IC induzida por sobrecarga de volume, estando o efeito benéfico relacionado com a recuperação da estrutura das *gap junctions* e com a melhoria na expressão da Cx43 (Liu et al. 2006).

2.2.3.7. Remodelação metabólica

Alterações como a redução no conteúdo em fosfatos de alta energia, disfunção mitocondrial e aumento da dependência da glucose como substrato, são características do coração hipertrofiado e insuficiente (Bilsen, Nieuwenhover & Vuss, 2009).

Em condições de repouso, mais de 70% da energia utilizada pelo coração deriva da oxidação dos ácidos gordos; o restante provém da oxidação de carbo-hidratos, principalmente da glucose. Num coração saudável, esta seleção particular de fonte energética não é uma preferência do miocárdio pré-determinada, é primariamente governada pelos níveis de hormonas (insulina, catecolaminas) e de substrato plasmáticos. Quando sobem as concentrações circulantes de substratos alternativos, como corpos cetónicos ou lactato, por exemplo como consequência de jejum ou de exercício intenso, o músculo cardíaco passa a utilizar estes substratos (Bilsen et al. 2009; Lionetti, Stanley & Recchia. 2011).

A taxa máxima de consumo de oxigénio em mitocôndrias isoladas revelou-se reduzida em modelos experimentais de IC. Consistentemente, foram descritas reduções no conteúdo e atividade dos complexos I-IV da cadeia respiratória mitocondrial. De notar que os parâmetros respiratórios permanecem inalterados em mitocôndrias de corações com sobrecarga de volume ou de pressão que ainda não revelam sinais de insuficiência. Estas e outras observações levam à conclusão que as anomalias na função mitocondrial representam um fenómeno tardio no desenvolvimento da IC (Bilsen et al. 2009).

Várias hipóteses foram propostas como causas da disfunção mitocondrial. Uma destas foi o declínio observado nos níveis de expressão de factores cruciais envolvidos na biogénese mitocondrial, como o PGC-1 α (*PPAR-coactivator-1 α*), os factores respiratórios nucleares 1 e 2 (NRF1/2) e o factor de transcrição mitocondrial A (Tfam); no entanto, nem todos os estudos conseguiram detectar este declínio. Outra possível causa para a disfunção é, como já foi mencionado, a geração de ROS e os danos que provocam no mtDNA. Vários estudos apontam também para alterações no acoplamento mitocondrial, refletido pela redução no rácio ATP/O. Foi sugerido que as UCPs (*mitochondrial UnCoupling Proteins*), que dissipam o gradiente electroquímico mitocondrial de protões que é utilizado para gerar ATP, seriam grandemente responsáveis por este fenómeno. Consistentemente, foi observado um aumento na expressão das UCP2 ou 3 em modelos animais de IC. Outros estudos, porém, não tendo encontrado alterações nos níveis destas proteínas, levam a questionar a sua importância como fator causal da disfunção mitocondrial. Foram também encontrados alguns indícios de que uma organização inapropriada, e não uma expressão ou atividade reduzidas dos complexos individuais da cadeia transportadora de electrões, pode ser responsável pela taxa de respiração mitocondrial reduzida que é observada na IC (Bilsen et al. 2009).

Muitos estudos clínicos e pre-clínicos demonstraram que o conteúdo em fosfatos de alta energia se encontrava reduzido na hipertrofia compensada e na IC, fato refletido pelo declínio no conteúdo em fosfocreatina (PCr) cardíaco, acompanhado ou não de declínio no nível de ATP. Como consequência, o rácio PCr/ATP, índice de reserva energética, encontra-se reduzido. Isto apoia a ideia de que a capacidade de conversão de energia química em trabalho mecânico se encontra comprometida no coração insuficiente (Bilsen et al. 2009).

Estudos em cães com IC induzida por *pacemaker* e corações isolados de ratazanas sujeitos a sobrecarga de pressão ou volume mostraram que a oxidação miocárdica de ácidos gordos se encontra deprimida, e a captação de glucose aumentada. De facto, uma variedade de genes implicada na captação e no metabolismo dos ácidos gordos revelou-se reduzida em modelos experimentais de hipertrofia e insuficiência cardíacas. De notar que os resultados obtidos

apontam também para que as alterações de substrato estão confinadas aos casos de insuficiência mais grave, congestiva (Bilsen et al. 2009; Lionetti et al. 2011).

Há que ter em conta que, em termos de custo de oxigénio, a oxidação da glucose é mais eficiente que a dos ácidos gordos, de modo que mudar da oxidação de ácidos gordos para a de glucose é aproximadamente 11% mais económico. No entanto, em termos absolutos, a oxidação de uma molécula de ácido gordo (e.g. palmitato) resulta em bastante mais ATP (~126) que a glucose (~36). Embora a captação e oxidação de glucose se encontrem aumentadas nos corações insuficientes, não é o suficiente para compensar a redução no consumo de ácidos gordos. Como tal o coração insuficiente é um órgão cujo comprometimento a nível energético poderá precipitar mais deterioração funcional. Não obstante, vários estudos que alteraram a nível genético e farmacológico o metabolismo cardíaco no sentido da maior utilização da glucose como substrato energético, mostraram que esta alteração é benéfica nos casos de IC (Bilsen et al. 2009; Kolwics & Tian, 2011; Lionetti et al. 2011). Foi também notado, no entanto, que a captação e metabolismo acelerados de glucose podem resultar em glucotoxicidade cardíaca, exacerbada ainda pelos níveis elevados de ácidos gordos circulantes. Esta é interpretada como sendo uma consequência da capacidade limitada do coração insuficiente para canalizar a maior quantidade de glucose para a via glicolítica/oxidativa, com o consequente redirecionamento para a via da pentose fosfato o que, por sua vez, vai piorar o *stress* oxidativo (Lionetti et al. 2011).

Os dados disponíveis sugerem que a redução dos ácidos gordos por supressão da lipólise no tecido adiposo não melhora a função cardíaca na IC. A terapia com acipimox, um derivado do ácido nicotínico com efeitos antilipolíticos pronunciados, causou uma redução na oxidação miocárdica de ácidos gordos e aumentou o aporte de glucose em pacientes humanos com cardiomiopatia. Contudo, estes efeitos metabólicos surgiram associados com uma significativa redução no trabalho e eficiência cardíacos. Uma explicação possível é que, embora a oxidação de ácidos gordos esteja reduzida na IC, representa ainda uma fonte importante de energia para o coração insuficiente e a sua inibição por um tratamento farmacológico agressivo causará ainda mais degradação funcional (Lionetti et al. 2011).

É sabido que a terapia a longo prazo com inibidores β -adrenérgicos melhora o desempenho cardíaco e a sobrevivência de pacientes com IC através de um efeito de poupança energética, em parte devido a uma mudança da preferência de substrato energético da oxidação de ácidos gordos para a oxidação de carboidratos (Lionetti et al. 2011).

A oxfenicina é um inibidor efetivo da carnitina-palmitoil transferase tipo 1 (CPT-1) cardíaca e da oxidação de ácidos gordos que foi inicialmente desenvolvida para o tratamento da angina crónica estável. Este fármaco foi avaliado no modelo canino da IC induzida por *pacemaker*,

comparando cães normais com cães tratados e não tratados com oxfenicina. Verificou-se que retardava o desenvolvimento da insuficiência terminal e que atenuava as alterações hemodinâmicas e a dilatação do VE, prevenindo também a redução transcripcional das enzimas metabólicas (CPT-1, acyl-CoA desidrogenase de cadeia média (MCAD), GAPDH e citrato sintase) (Lionetti et al. 2011).

O etomoxir é um inibidor irreversível da CPT-1 que inibe eficazmente a oxidação de ácidos gordos miocárdica causando a ativação recíproca da oxidação da glucose. Foi demonstrado que o etomoxir preveniu a iniciação da expressão genética patológica e do desenvolvimento de IC em ratazanas com hipertrofia cardíaca induzida por sobrecarga de volume. Em contrapartida, este fármaco não foi capaz de reverter a disfunção contrátil em ratazanas com IC estabelecida. Embora um estudo subsequente com controlo placebo tenha sido interrompido devido a hepatotoxicidade, mostrou tendências de melhora na função cardíaca nos pacientes tratados, sugerindo que a inibição da CPT-1 exerce um efeito positivo no miocárdio (Lionetti et al. 2011) Perhexilina é um fármaco usado no tratamento de angina crónica estável que é mais eficiente a inibir a isoforma cardíaca da CPT-1. Pequenos estudos com controlo placebo mostram que a perhexilina melhora a qualidade de vida e aumenta a fração de ejeção do ventrículo esquerdo em pacientes com disfunção contrátil. Foi demonstrado (Abozguia et al., 2010) que este fármaco aumentou o rácio PCr/ATP em pacientes com cardiomiopatia hipertrófica, consistentemente com um mecanismo de ação a nível metabólico (Lionetti et al. 2011).

A trimetazidina é também um fármaco anti-angina que inibe o aporte e a oxidação de ácidos gordos, levando à ativação recíproca da oxidação de glucose. Pequenos estudos realizados em humanos mostraram quer uma tendência quer uma melhoria significativa na fração de ejeção do VE assim como uma redução nos volumes sistólico e diastólico. O desempenho durante o exercício, assim como o movimento da parede ventricular esquerda sob estimulação por dobutamina também melhorou relativamente ao tratamento com placebo. Além disso, os marcadores plasmáticos da gravidade da IC (BNP e citoquinas inflamatórias) reduziram com o tratamento. Estes dados sugerem que o tratamento a longo prazo com trimetazidina pode aumentar os tempos de sobrevivência e de hospitalização (Lionetti et al. 2011).

2.2.3.8. Morte celular

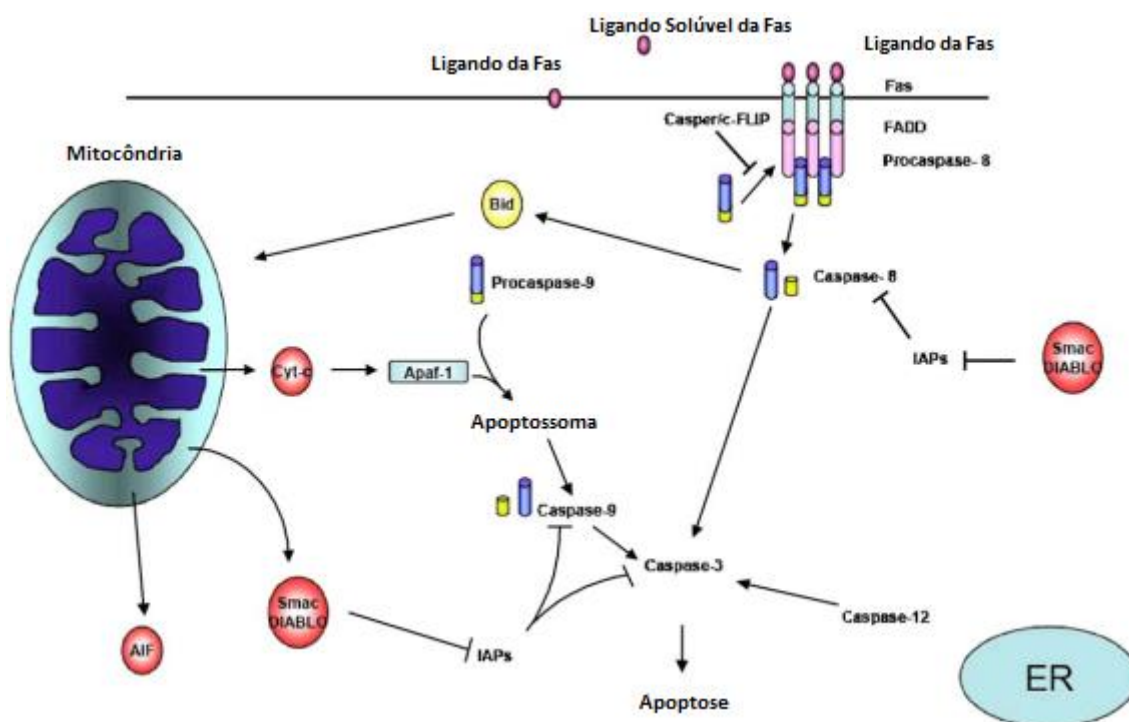
Um evento reconhecidamente importante na transição da hipertrofia compensada para a cardiomiopatia é a perda de cardiomiócitos devida a apoptose, necrose programada e autofagia (Dorn, 2009).

A apoptose é uma resposta celular altamente conservada e rigorosamente controlada. Não tendo nenhum papel fisiológico conhecido nos cardiomiócitos normais do coração adulto, é um processo essencial na formação das válvulas cardíacas e do trato de saída durante o desenvolvimento cardíaco. Além disso, em muitos tecidos adultos, a apoptose restringe a proliferação de células anormais que poderiam, de outra forma, sofrer transformação neoplásica (Dorn, 2009).

A apoptose é mediada pela ativação em cascata das caspases, um grupo de proteases de cisteína. Nas células saudáveis, as caspases encontram-se no citosol como pro-formas inativas (zimogénios), que são ativadas em sequência por clivagem proteolítica (Empel et al. 2005; Dorn, 2009).

Existem duas vias apoptóticas principais nas células de mamíferos: a “intrínseca” e a “extrínseca”, ilustradas na figura 8. A via intrínseca utiliza a mitocôndria para desencadear a morte celular através da abertura do poro de transição de permeabilidade mitocondrial (MPTP) ou de ruptura da membrana mitocondrial externa, levando a uma libertação para o citosol de proteínas do espaço intermembranário mitocondrial, tais como o citocromo C, Smac/DIABLO, endonuclease G e fator indutor de apoptose (AIF). Uma vez libertado, o citocromo C liga-se à proteína citosólica *apaf1* facilitando a formação do complexo “apoptosoma”, que resulta na ativação da caspase-9 que, por sua vez, provoca a ativação da caspase-3. A Smac/DIABLO activa as caspases indiretamente ao sequestrar as proteínas inibitórias das mesmas. A endonuclease G e o AIF são translocados para o núcleo, onde, direta ou indiretamente, facilitam a fragmentação do DNA (Empel et al. 2005).

Figura 8 - Vias de sinalização apoptóticas. Duas vias apoptóticas principais estão ativas nos corações de mamíferos, incluindo na célula muscular cardíaca. A mitocôndria desempenha um papel chave na via “intrínseca”. A via da morte mitocondrial é mediada por sinais de morte intra e extracelulares que incidem sobre as mitocôndrias levando à alteração da sua fisiologia normal e à abertura dos poros de transição de permeabilidade mitocondriais (MPTP- *mitochondrial permeability transition pore*). O MPTP é um poro inespecífico que permite o movimento de pequenas moléculas (<1.5 kDa) entre o citosol e a matriz mitocondrial. Aquando da permeabilização da mitocôndria, várias proteínas intermembranárias são libertadas no citosol, incluindo o citocromo C, as Smac/DIABLO, endonuclease G (Endo G) e AIF (*apoptosis inducing factor*). Especificamente, o citocromo C liga-se à proteína citosólica apaf1 facilitando a formação do complexo “apoptossoma”, o que resulta na ativação da caspase-9 que, por sua vez, ativa a caspase-3. Em segundo lugar, a via “extrínseca” dos recetores de morte é desencadeada pela ligação de membros da superfamília dos recetores de morte como o Fas/CD95 e o TNF- α aos seus recetores correspondentes, o que induz a aglomeração de recetores. A ativação dos recetores correspondentes desencadeia o recrutamento da molécula adaptadora FADD. Isto resulta na geração de um complexo sinalizador indutor de morte (DISC - *death-inducing signaling complex*), que activa a caspase-8 e a caspase-3. As vias “intrínseca” e “extrínseca” convergem nas caspases efetoras, resultando na clivagem de substratos e na morte celular. A conexão entre as vias “intrínseca” e “extrínseca” existem através da clivagem do Bid mediada pela caspase-8, resultando na translocação daquele para a mitocôndria, onde vai ativar a Bak e promove a libertação do citocromo C. As caspases podem ser inibidas pelas proteínas inibidoras da apoptose (IAP-*inhibitory of apoptosis proteins*) que, por sua vez podem ser inibidas pelas Smac/DIABLO (Empel et al. 2005).



A via extrínseca é desencadeada por membros da superfamília dos recetores de morte, como o recetor Fas e o recetor do fator de necrose tumoral α (TNF α). A ligação da proteína transmembranária ligando Fas ao respectivo recetor induz aglomeração de recetores e formação de um complexo sinalizador indutor de morte (DISC-*Death-Inducing Signaling Complex*). Este complexo recruta múltiplas moléculas de procaspase-8 através da proteína adaptadora FADD (*Fas-Associated Death Domain protein*), resultando na ativação da caspase-8 induzida pela proximidade. O ligando Fas encontra-se em abundância nos cardiomiócitos adultos e a sua expressão aumenta em resposta a estímulos patológicos (Empel et al. 2005).

Além das vias mitocondrial e de recetores de morte deverão existir outros programas genéticos, uma vez que a apoptose continua presente em ratos sem caspase-8 (crucial para a via extrínseca) e caspase-9 (crucial para a via intrínseca). Uma outra via é iniciada pela caspase-12. Esta localiza-se no RE e é ativada especificamente por *stress* do mesmo. O RE é uma organela que assegura o enrolamento adequado das proteínas, sendo particularmente sensível a perturbações na regulação redox e na homeostase intracelular do cálcio, que provocam a acumulação de proteínas desdobradas no lúmen do RE. Isto leva à ativação de uma via de transdução de sinal direccionada à aceleração da degradação das proteínas defeituosas. Se o estímulo nocivo é persistente, o RE pode iniciar a morte celular por vias dependentes e independentes da mitocôndria (Empel et al. 2005; Dorn, 2009; Ruiz-Meana, Fernandez-Sanz & Garcia-Dorado, 2010).

Estão identificados múltiplos estímulos para a morte dos cardiomiócitos, incluindo o estiramento excessivo, ROS, agonistas β_1 adrenérgicos, angiotensina II, citocinas pró-inflamatórias e alterações do citoesqueleto (Nishida & Otsu, 2008).

A apoptose encontra-se notavelmente aumentada e desempenha um papel patofisiológico fundamental em modelos experimentais de IC ou hipertrofia descompensada. Embora a perda de miócitos observada seja aparentemente baixa, devido à capacidade de regeneração limitada dos cardiomiócitos, estes níveis baixos implicam efeitos profundos (Chiong et al. 2011; Nishida & Otsu 2008).

Outra forma de perda de cardiomiócitos na IC é a necrose, quer programada, quer “convencional”. No primeiro caso, a mitocôndria desempenha um papel central. Em resposta a estímulos como o aumento do Ca^{2+} intracelular, aumento do pH e ROS, a abertura dos MPTPs leva ao aumento da permeabilidade da membrana interna da mitocôndria o que, por sua vez, conduz à perda do gradiente eletroquímico. A produção de ATP para e, inversamente, começa a ser consumido ATP na tentativa de repôr o gradiente, tornando assim as mitocôndrias em consumidoras líquidas de energia, em vez de produtoras, o que conduz a célula à morte necrótica devido à suspensão das funções homeostáticas mínimas. A destruição da célula com libertação do conteúdo celular desencadeia uma resposta inflamatória secundária com potenciais consequências patológicas (Dorn, 2009; Chiong et al., 2011; Nishida & Otsu, 2008). Quanto à necrose “convencional”, trata-se de uma consequência do processo hipertrófico. Por um lado, postula-se a existência de um “núcleo isquémico” no próprio miócito hipertrofiado, uma vez que a área de secção excede os limites da entrega de oxigénio ao centro da célula, reduzindo assim a geração de ATP. Por outro lado, devido ao facto de a angiogénese capilar não aumentar em paralelo à hipertrofia dos miócitos, a redução relativa na densidade capilar resulta numa redução absoluta na entrega de oxigénio ao miocárdio (Dorn, 2009).

A autofagia é um processo de reciclar os componentes citoplasmáticos, como proteínas e organelos. Outras funções fisiológicas deste processo são eliminação de microorganismos, supressão tumoral e apresentação de antígenos (Nishida & Otsu, 2008). Geralmente é um processo contínuo, essencial para manter a homeostase celular. Não obstante, a autofagia pode ser desencadeada por estímulos stressantes extrínsecos, como privação de nutrientes, e intrínsecos. Quando isto acontece e a autofagia aumenta para lá dos limites fisiológicos, pode produzir uma forma de morte celular programada caracterizada pela destruição física de organelos celulares essenciais e consequente disfunção celular. A autofagia distingue-se da apoptose pela ausência de ativação das caspases ou de degradação do DNA e pela presença de autofagossomas característicos, delimitados por duas membranas, que encerram proteínas destinadas à degradação e que as transporta para os lisossomas (Dorn, 2009).

Marcadores de autofagia são observados em modelos de IC mas é ainda controverso se têm um papel protector ou prejudicial. Com a privação de nutrientes, a ativação de vias autofágicas fornece fontes de energia adicionais à célula ao degradar proteínas desnecessárias libertando os aminoácidos que as constituem. Desta forma, a redução de ATP observada na IC poderia ser retificada pela autofagia. No entanto, quando o efeito líquido deste processo é a destruição do RE e das mitocôndrias, componentes necessários à manutenção da homeostase celular, a célula acabará por morrer (Dorn, 2009).

2.2 Papel dos mastócitos

Um aumento significativo na densidade de mastócitos foi observado em corações insuficientes (Balakumar et al. 2007).

A *histamina*, um dos principais mediadores químicos libertados aquando da desgranulação dos mastócitos no coração, induz a expressão do *c-fos*, gene envolvido na indução da hipertrofia cardíaca. Além disso, num estudo, a famotidina, um antagonista dos recetores H2 da histamina, preveniu a remodelação ventricular na ICC em pacientes humanos (Balakumar et al. 2007). Interessantemente, foi demonstrado que a famotidina preserva a função sistólica em cães com IC induzida por *pacemaker*, mesmo concomitantemente com a administração de β -bloqueadores (Takahama et al., 2010).

A *quimase*, como acima referido, é uma enzima proteolítica que catalisa a conversão de angiotensina I em angiotensina II independentemente da ECA. Também ela está armazenada no interior de mastócitos, sendo ativada aquando a sua desgranulação. Foi demonstrado que um inibidor específico da quimase preveniu a fibrose cardíaca e melhorou a função diastólica

(Matsumoto, Wada, Tsutamoto, Ohnishi, Isono & Kinoshita, 2003). A angiotensina II derivada da quimase aumenta a expressão do mRNA do TGF- β nos cardiomiócitos (Balakumar et al. 2007).

O TGF- β , também libertado pelos mastócitos, está envolvido, através de várias vias de sinalização, no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca, na proliferação de fibroblastos e síntese de colagénio no coração (Balakumar et al. 2007).

Numerosos estudos sugerem ainda que os mastócitos constituem uma fonte adicional de *renina*, ativando com maior intensidade o sistema renina-angiotensina local (Balakumar et al. 2007). Os ROS produzidos no interior dos mastócitos com a finalidade de regular a sua função não são exportados para o exterior da célula devido ao forte sistema antioxidante no seu interior. No entanto, produtos de desgranulação como o TNF- α e a angiotensina II aumentam a produção de ROS através da ação da NADPH oxidase. Os ROS estão envolvidos no processo de hipertrofia cardíaca pois ativam moléculas de sinalização como a tirosina cinase, a PKC e a MAPK (Balakumar et al. 2007).

Embora, em contraste, alguns estudos sugiram o papel protetor dos mastócitos na remodelação miocárdica, estabilizadores de mastócitos foram capazes de prevenir a mesma em casos de sobrecarga de volume e cardiomiopatia induzida por miocardite auto-imune (Balakumar et al. 2007).

Também interessante em termos terapêuticos para a remodelação cardíaca como um todo é fator de crescimento de hepatócitos (*hepatocyte growth factor*-HGF). Trata-se de um fator de crescimento pluripotente que possui uma notável capacidade de promover reparação tecidual e regeneração de órgãos pós-lesão, sendo também um agente de melhora da fibrose tecidual e da disfunção em afeções crónicas. Inicialmente, esta molécula foi clonada como um potente mitogénio para os hepatócitos. Foi demonstrado que exercia atividade mitogénica, motogénica e morfogénica em vários tipos celulares. Todos os efeitos biológicos conhecidos do HGF são mediados pela interação com o seu recetor específico, c-Met. Foi demonstrada a existência de um sistema cardíaco local de HGF (HGF/c-Met) em modelos animais de isquémia e reperfusão cardíacas, sugerindo um potencial papel para esta molécula nas doenças cardiovasculares. Esta molécula possui efeitos de angiogénese, de mobilização de células estaminais, antifibróticos, antiapoptóticos e antihipertróficos. Os resultados de um estudo indicam que a injeção intramiocárdica de HGF em cães com IC moderada previne a disfunção ventricular esquerda progressiva, atenuando a remodelação miocárdica no VE. Estes resultados prometem um futuro papel da transferência de HGF em pacientes com IC (Rastogi et al. 2011).

O análogo da prostaciclina ONO1301 elevou os níveis de RNA mensageiro e de proteínas do HFG, do fator de crescimento vascular endotelial e do factor-1 derivado do estroma em fibroblastos dérmicos humanos normais *in vitro*. A administração intramiocárdica de ONO1301SR, uma formulação do referido análogo com um polímero de ácidos polilático e glicólico, resultou em significativa recuperação funcional a nível regional num modelo canino de DCM induzida por *pacemaker*. Verificou-se um aumento da densidade vascular, reduzida acumulação intersticial de colagénio, hipertrofia miocítica atenuada e estrutura mitocondrial revertida na área correspondente (Shirasaka et al., 2013).

3. Avaliação da estrutura cardíaca

3.1 Sinais radiográficos de remodelação

Na doença cardíaca que se caracteriza por sobrecargas de pressão ou volume, o coração está sujeito a alterações na sua estrutura anatômica decorrentes dessas mesmas sobrecargas.

Os átrios, quando afetados, sofrem essencialmente dilatação que, se suficientemente grave, é detetável no exame radiográfico. Quanto à remodelação estrutural ventricular (hipertrofia) inclui-se em duas categorias: concêntrica e excêntrica. Em termos radiográficos, a segunda apresenta sinais diretos mais evidentes, embora no que respeita à primeira se possam também encontrar sinais da afeção primária que lhe deu origem (ex: dilatação pós-estenótica na estenose aórtica) (Thrall, 2007).

Nesta secção são descritos os principais paradigmas interpretativos utilizados na avaliação radiográfica da estrutura do coração.

3.1.1. As variações normais no aspecto da silhueta cardíaca

A avaliação radiográfica do coração pode ser difícil, na medida em que vários fatores podem alterar a sua aparência radiográfica, nomeadamente a espécie, a raça (cães), a idade, a conformação corporal, a posição do corpo, a fase respiratória, a fase do ciclo cardíaco e alterações patológicas não relacionadas com o coração (Thrall, 2007; Schwarz & Johnson, 2009).

Na tabela 1 apresentam-se as diferenças gerais entre silhuetas cardíacas de cão e gato.

Tabela 1- Diferenças entre as silhuetas cardíacas do cão e do gato no exame radiográfico (Thrall, 2007; Schwarz & Johnson, 2009).

Cão	Gato
No plano VD/DV, o ápex está mais deslocado para a esquerda	No plano VD/DV, a posição do ápex é mais variável, mas geralmente mais próxima da linha média, sendo o posicionamento para a direita considerado uma variação normal
No plano VD/DV, o apêndice auricular esquerdo localiza-se entre as 2.30 e as 3 horas	No plano VD/DV, o átrio e o apêndice auricular esquerdos localizam-se entre a 1 e as 2 horas; A artéria pulmonar principal pode ser cranial a estes ou não se ver de todo; A localização mais cranial do átrio esquerdo pode torná-lo difícil de ver no plano lateral
No plano VD/DV, quando o AE está aumentado, sobrepõe-se à silhueta cardíaca entre as 5 e as 7 horas	No plano VD/DV, quando o AE está aumentado, localiza-se na posição 1-2 horas; deste modo surge a forma de “coração de copas”, observada apenas no gato, criada por aumento do átrio esquerdo (com ou sem aumento do átrio direito)

A *raça* apenas é considerada um factor de variação significativa no caso dos cães. De facto, nesta espécie, dada a extrema variedade inter-racica de tamanho e conformação corporais, verificam-se alterações concomitantes na forma da silhueta cardíaca. Assim, distinguem-se para este efeito três tipos de tórax: largo (Dachshund, Shi-tzu, Boston Terrier, Bulldog), estreito/profundo (Greyhound, Galgo Afegão, Whippet) e intermédio (Cão de Pastor Alemão, Labrador Retriever). Na tabela 2 estão enunciadas as principais diferenças entre cada um destes tipos (Thrall, 2007; Schwarz & Johnson, 2009).

Tabela 2 – Características da silhueta cardíaca no cão segundo os vários tipos de tórax (Thrall, 2007; Schwarz & Johnson, 2009).

Tipo de Tórax	Plano lateral	Plano dorsoventral
Largo (“em forma de barril”)	Silhueta cardíaca mais curta e arredondada com uma maior inclinação em relação à coluna vertebral; Grande área de contacto esternal, podendo confundir-se com cardiomegalia direita	Bordos ventriculares arredondados; Ápex geralmente bem à esquerda da coluna vertebral
Estreito/profundo	Coração longo e oval, com uma posição vertical no tórax, quase perpendicular à coluna vertebral; Ápex cardíaco pode estar suficientemente afastado do esterno para se confundir com pneumotórax	Silhueta cardíaca quase circular devido à posição vertical do coração no tórax; Ápex próximo do plano médio
Intermédio	Silhueta cardíaca ovóide	Silhueta cardíaca semelhante ao plano lateral; Ápex cardíaco em geral ligeiramente à esquerda da coluna vertebral

A *condição corporal* é outro dos fatores importantes, na medida em que uma grande quantidade de gordura pericárdica pode levar a um diagnóstico errado de cardiomegália, uma vez que aquela contribui para a dimensão geral da silhueta cardíaca. Não obstante, é possível identificar a presença desta gordura, uma vez que tem uma menor radiopacidade que o coração e, na sua presença, a margem cardíaca não é tão definida. No gato, em particular, a gordura pericárdica é observada mais facilmente em radiografias VD/DV que nas laterais. Deve suspeitar-se da sua presença se há uma grande quantidade de gordura falciforme, podendo haver um triângulo característico de radiopacidade de tecido mole na margem cranial direita da silhueta cardíaca no plano VD/DV (Thrall, 2007; Schwarz & Johnson, 2009).

A *idade* também influencia a aparência radiográfica da silhueta cardíaca. Cães jovens aparentam ter corações grandes devido ao menor tamanho relativo do tórax. Cerca de 40% dos gatos com mais de dez anos de idade tem uma silhueta cardíaca inclinada cranialmente com aumento do contacto esternal. Alguns gatos idosos apresentam, além disso, uma aorta tortuosa no plano lateral, com um arco aórtico orientado mais verticalmente que depois curva para cima e caudalmente, assumindo um contorno serpenteante enquanto progride em direção ao diafragma; no plano VD/DV este contorno pode destacar-se do mediastino e ser mal interpretado como um nódulo pulmonar (Thrall, 2007; Schwarz & Johnson, 2009).

O *posicionamento* é um fator a ter em conta em cães médios a grandes, sendo menos importante no gato e em cães pequenos. Em radiografias dorsoventrais o diafragma está deslocado cranialmente, o que empurra o coração para ao hemitórax esquerdo; a silhueta cardíaca é mais oval sendo a sua forma e posição do ápex mais consistentes. No plano ventrodorsal a silhueta do coração é mais alongada, podendo o ápex estar mais próximo da linha média; pode também observar-se uma saliência na posição da artéria pulmonar principal. Quanto aos planos laterais, temos que no direito há um maior contacto esternal que no esquerdo. Neste último, a silhueta cardíaca aparece mais arredondada, podendo o ápex estar ligeiramente afastado do esterno (Thrall, 2007; Schwarz & Johnson, 2009).

No que diz respeito à *fase respiratória*, existem as seguintes alterações da expiração em relação à inspiração: tamanho relativo do tórax reduzido, criando uma falsa impressão de cardiomegália; contacto esternal aumentado; aumento real do coração, embora ligeiro; silhueta cardíaca mais difícil de distinguir, cranialmente devido à gordura mediastínica adjacente, e caudalmente devido à sobreposição do diafragma, além de que o menor conteúdo de ar no tecido pulmonar adjacente à silhueta cardíaca cria uma zona indistinta que a rodeia (Thrall, 2007; Schwarz & Johnson, 2009).

As alterações devidas ao ciclo cardíaco são mais facilmente discerníveis em cães grandes ou com um ritmo cardíaco lento, sendo raramente causa de más interpretações. Na maioria das radiografias o coração acaba por aparecer em diástole, uma vez que é uma fase mais prolongada que a sístole. Caso contrário, perto do final da sístole, os bordos atriais podem aparecer arredondados e fazendo saliência e os ventrículos podem aparentar ser ligeiramente menores, com um contorno em “V” em vez de em “U”. Nos planos VD/DV a artéria pulmonar principal pode aparecer mais proeminente em sístole. Um relato sugere que as alterações devidas ao ciclo cardíaco em gatos são mais importantes no plano DV que no VD (Thrall, 2007; Schwarz & Johnson, 2009).

Doenças não cardíacas concomitantes também podem originar alterações aparentes no coração. Por exemplo, afeções pulmonares podem causar alterações na posição do mediastino modificando a posição e eixo do coração na cavidade torácica; são exemplos destas a consolidação pulmonar, a atelectasia, a congestão hipostática (pacientes em decúbito ou após anestesia geral), doença pleural, lobectomia prévia. Massas mediastínicas também podem afetar a posição e o eixo cardíacos, assim como obscurecer as margens cardíacas ao produzir um sinal de silhueta sob o coração. Casos de pneumotórax podem levar a alterações de volume desproporcionais num dos hemitóraxes, alterando a posição e o eixo cardíacos. Anomalias congénitas ou traumáticas na conformação do esterno podem também alterar a posição e eixo do coração (Thrall, 2007; Schwarz & Johnson, 2009).

3.1.2. *A dimensão*

Existem algumas regras gerais para avaliar o tamanho cardíaco geral no cão e no gato.

No caso do cão, temos que, no plano lateral, o comprimento do coração (do ápex à base) deve ser aproximadamente 70% da altura da cavidade torácica; a largura deve situar-se entre 2.5 (em raças de peito profundo) e 3.5 (em raças de peito “em barril”) espaços intercostais; na vista DV, a largura da silhueta cardíaca é geralmente 60-65% da largura do tórax; no plano VD, esta largura não deve ultrapassar os dois terços da largura do tórax no ponto de maior largura do coração (Thrall, 2007; Schwarz & Johnson, 2009).

No gato, no plano lateral, a largura da silhueta cardíaca não deve ultrapassar 2-2.5 espaços intercostais; a largura máxima deve ser aproximadamente igual à distância entre o bordo cranial da 5ª costela e o bordo caudal da 7ª (Thrall, 2007; Schwarz & Johnson, 2009).

De forma a tomar em conta as variações do tamanho cardíaco inerentes às diferentes raças, foi criado um sistema de medição da silhueta cardíaca, a *vertebral heart scale* ou *vertebral heart score* (VHS). Consiste em medir, no plano laterolateral (LL), o eixo longo (desde a carina ao ápex) e o eixo curto (perpendicular ao primeiro, na zona mais larga) do coração, fazendo corresponder cada uma destas medidas à coluna vertebral começando na vértebra T4. Segundo o estudo original, integrando várias raças, um VHS normal varia entre 8.7 e 10.7 corpos vertebrais em cães (Buchanan & Bucheler, 1995). Não obstante, existe variação considerável entre raças mesmo em relação a este valor, e estudos posteriores estabeleceram valores normais específicos de raça, apresentados na tabela 3.

Tabela 3 – Valores do VHS (*Vertebral Heart Score*) para diferentes raças de cão (Schwarz & Johnson, 2009).

Raças	VHS (nº de vértebras)
Boxer	11.6 +/- 0.8
Cavalier King Charles Spaniel	10.6 +/- 0.5
Dobermann	10.0 +/- 0.6
Labrador Retriever	10.8 +/- 0.6
Cão de Pastor Alemão	9.7 +/- 0.7
Whippet	11.0 +/- 0.5
Yorkshire Terrier	9.7 +/- 0.5

No gato, este valor é de 7.5 +/- 0.3 corpos vertebrais.

Este método, embora útil para principiantes, não é considerado superior à avaliação subjectiva de um radiologista experiente. O melhor uso desta técnica será comparar o tamanho do coração no mesmo indivíduo em diferentes datas de forma a avaliar a alteração ao longo do tempo (Schwarz & Johnson, 2009).

3.1.3 As câmaras

As câmaras cardíacas não são diretamente visualizáveis num exame radiográfico simples, sendo apenas possível localizá-las com exatidão através da angiocardiorrafia (radiografia de contraste). Esta foi, na verdade, uma ferramenta útil que permitiu formular diagramas indicativos da posição das câmaras na silhueta cardíaca. Assim, as seguintes regras básicas são usadas para localizar as câmaras na radiografia simples:

- no cão, o átrio e o ventrículo esquerdos localizam-se na região esquerda e caudal do coração; o átrio e o ventrículo direitos situam-se na zona direita e cranial
- a posição do ápex cardíaco pode ser usada para separar as partes esquerda e direita do coração: na vista lateral o ventrículo direito é cranial ao ápex e no plano VD/DV situa-se à sua

direita; com o ventrículo esquerdo passa-se o inverso (o ponto apical exato pode ser difícil de determinar devido à variação na posição cardíaca, podendo tornar por vezes difícil a avaliação do aumento do lado direito *versus* lado esquerdo).

- os dois átrios situam-se dorsalmente ao nível da veia cava caudal no plano lateral
- os bordos dorsal e caudodorsal do átrio esquerdo não têm um contorno distinto uma vez que as veias pulmonares entram nesta área e a artéria pulmonar direita também se sobrepõe a esta região (Thrall, 2007).

Para indicar a posição das quatro câmaras cardíacas numa radiografia, usa-se geralmente a analogia do relógio. Imaginando um relógio sobreposto à silhueta do coração, usam-se os números para identificar e delimitar as regiões das diferentes câmaras. Na exposição que se segue serão indicadas as posições de cada uma das câmaras segundo esta analogia, respectivamente no plano lateral e VD/DV (Schwarz & Johnson, 2009).

Átrio esquerdo

O aumento deste átrio corresponde geralmente a dilatação. A radiografia é um exame muito útil para identificar o seu aumento, sendo um meio sensível para detectar dilatações moderadas a graves (Thrall, 2007; Schwarz & Johnson, 2009).

Plano Laterolateral

Localização: 12 – 02 horas

Sinais de aumento:

- Silhueta cardíaca caudodorsal aparece elevada e perde a sua ligeira curvatura na direcção cranial podendo surgir vertical ou mesmo triangular (ver figura 9).
- Elevação do brônquio principal caudal esquerdo, visível como maior afastamento dos dois brônquios caudais principais entre si.

Figura 9 - Radiografia torácica de uma cadela caniche (“Cindy”) com claro aumento do átrio esquerdo; a elevação de toda a traqueia, ficando esta paralela à coluna vertebral, sugere também um aumento do ventrículo esquerdo.



- Podem ser visíveis as veias pulmonares aumentadas como opacidades nodulares indistintas entrando no átrio esquerdo (Thrall, 2007; Schwarz & Johnson, 2009).

➤ Nos gatos o AE situa-se mais cranialmente que nos cães, sendo mais difícil de visualizar no plano lateral (Thrall, 2007; Schwarz & Johnson, 2009).

Plano dorsoventral/ventrodorsal

Localização: 02.30 – 03 horas (aurícula esquerda)

Sinais de aumento:

Cão

- Pode ser visível a aurícula esquerda (AuE) na posição acima mencionada, ou porque está efectivamente dilatada, ou porque um aumento extremo do átrio a desloca lateralmente (Thrall, 2007; Schwarz & Johnson, 2009).
- O AE aumentado projecta-se sobre a silhueta cardíaca na posição 05.00 – 07.00 horas, entre os brônquios principais caudais, resultando no afastamento destes, conhecido como sinal de “pernas de *cowboy*”; o ângulo normal entre os brônquios é de cerca de 60 – 90 graus (diferenciar este afastamento daquele que resulta do aumento do linfonodo traqueobrônquico médio; este também produz divergência dos brônquios, mas produz deslocação ventral dos mesmos no plano lateral) (Thrall, 2007; Schwarz & Johnson, 2009).
- Devido à sobreposição do AE com o ventrículo neste plano, pode surgir o chamado sinal de “dupla opacidade” (duas diferentes opacidades de tecido mole entre os brônquios caudais) (Thrall, 2007; Schwarz & Johnson, 2009).

Gato

- AE e AuE aumentados visíveis no bordo cranial esquerdo da silhueta cardíaca (1 – 2 horas) (Schwarz & Johnson, 2009).
- Um AE gravemente aumentado pode fazer saliência para a esquerda a ponto de causar o deslocamento do ápex cardíaco para a direita. Se aumento do AD estiver presente, pode criar-se a aparência de “coração de copas” (Schwarz & Johnson, 2009).

Ventrículo esquerdo

Quando o seu aumento é decorrente de hipertrofia excêntrica é facilmente reconhecível, mas no caso de hipertrofia concêntrica (e.g. Estenose aórtica, hipertensão sistêmica) a silhueta cardíaca pode aparecer radiograficamente normal.

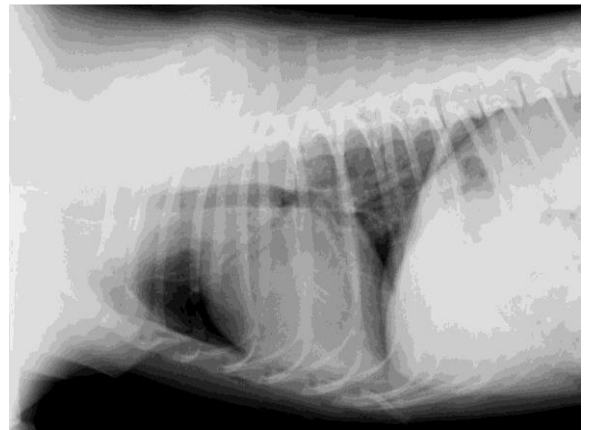
Plano Laterolateral

Localização: 2 – 5 horas

Sinais de aumento:

- Elevação de toda a traqueia (desde a entrada do peito até à carina) com perda da curvatura ventral terminal normal da mesma, estreitando o ângulo entre a traqueia e a coluna vertebral torácica (ver figura 10) (Thrall, 2007; Schwarz & Johnson, 2009).
- Bordo caudal da silhueta cardíaca torna-se mais reto (ou, menos frequentemente, arredondado) que o normal (Thrall, 2007; Schwarz & Johnson, 2009).

Figura 10 – Radiografia torácica de uma cadela de raça indeterminada (“Luna”), mostrando perda da curvatura ventral da traqueia e ligeiro arredondamento do bordo caudal da silhueta cardíaca, sinais sugestivos de aumento do ventrículo esquerdo.



Plano Dorsoventral/Ventrodorsal

Localização: 2 – 5 horas

- Aumento do comprimento da silhueta cardíaca.
- Outros sinais, como o ápex mais arredondado e mais deslocado para o hemitórax esquerdo, não são tão fiáveis (Schwarz & Johnson, 2009).

Átrio direito

O seu aumento não costuma surgir isolado, embora se possa dar o caso em cães com displasia da tricúspide; é difícil de identificar radiograficamente a menos que seja grave.

Plano Laterolateral

Localização: 9 – 10 horas (aurícula direita e artéria pulmonar principal)

Sinais de aumento:

- Saliência focal na região cranial da silhueta cardíaca ventral à traqueia terminal, cranialmente à carina. Pode chegar a empurrar dorsalmente a traqueia neste ponto se suficientemente aumentada ou se estiver presente uma massa (Thrall, 2007; Schwarz & Johnson, 2009).

Plano Dorsoventral/ventrodorsal

Localização: 9 – 11 horas

- Saliência na silhueta cardíaca na região acima referida (Schwarz & Johnson, 2009).

Ventrículo direito

A sensibilidade do raio-x para detetar hipertrofia ventricular direita é maior que para detetar hipertrofia ventricular esquerda.

O aumento do VD costuma ser sobrediagnosticado nas radiografias torácicas devido à forma mais arredondada da silhueta cardíaca característica de certas raças caninas, com aparente aumento do contacto esternal. (Schwarz & Johnson, 2009).

Figura 11 – Radiografia torácica de um Schnauzer Gigante (“Alec”) com cardiomegália generalizada; notar o aumento do contacto esternal e o facto de mais de 2/3 da silhueta cardíaca se encontrar cranialmente à linha base-ápex sugerindo o aumento do ventrículo direito.



Plano Laterolateral

Localização: 5 – 9 horas

Sinais de aumento:

- Para avaliar o seu tamanho, desenhar uma linha desde a carina até ao ápex cardíaco; aproximadamente dois terços da silhueta cardíaca devem ficar craniais à linha, e um terço caudal. Um componente cranial aumentado sugere aumento do ventrículo direito (ver figura 11).
- Rotação do ápex cardíaco caudodorsalmente para longe do esterno é um sinal sensível mas nem sempre está presente.

- Pode deslocar dorsalmente a traqueia como no aumento do átrio direito, mas esta mantém a curvatura ventral terminal (contrariamente ao que acontece no aumento do VE).
- Uma silhueta cardíaca mais larga também pode ser encontrada neste caso, embora seja um sinal não específico; o mesmo pode dizer-se do aumento do contacto esternal, sinal esse que não pode ser considerado significativo quando isolado, além de poder ser erradamente interpretado como acima referido (Thrall, 2007; Schwarz & Johnson, 2009).

Plano Dorsoventral/ventrodorsal

Localização: 5 – 9 horas

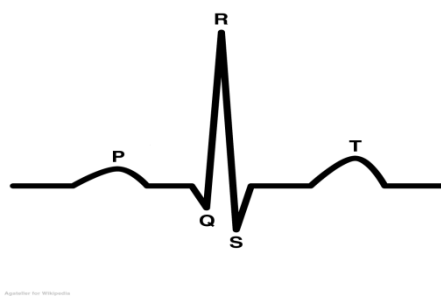
- Este plano é frequentemente mais fiável que a LL para avaliação do aumento do ventrículo direito.
- Aumento da silhueta cardíaca do lado direito do tórax.
- Distância entre o bordo direito da silhueta cardíaca e a parede direita do tórax reduzida.
- Forma em “D invertido” característica.
- Ocasionalmente o ápex pode ser empurrado para a esquerda, criando a falsa impressão de cardiomegália esquerda (Thrall, 2007; Schwarz & Johnson, 2009).

3.2. Sinais eletrocardiográficos de remodelação

O ECG é um exame complementar de diagnóstico que permite, não só avaliar a função do sistema de condução cardíaco, como também deduzir alterações estruturais, eletrolíticas e funcionais do músculo cardíaco. Este exame baseia-se no facto de as despolarizações e repolarizações do miocárdio gerarem diferenças de potencial detetáveis por elétrodos posicionados na superfície do corpo (Cunningham, 2004).

O eletrocardiograma consiste num gráfico que ilustra essas diferenças de potencial (d.d.p.) em milivolts (mV) em função do tempo (em segundos), medidas segundo seis derivações. As mais utilizadas são as três derivações bipolares (I – d.d.p. registada no membro anterior esquerdo (MAE) comparado com o membro anterior direito (MAD); II – d.d.p. registada no membro posterior esquerdo (MPE) em comparação com o MAD; III – d.d.p. registada no MPE comparando com o MAE) e três derivações unipolares aumentadas, que medem a diferença de potencial num membro em comparação com a média dos outros dois (aVr – MAD; aVI – MAE; aVf – MPE) (Cuningham, 2004; Fuentes et al. 2010). Um ciclo normal de despolarização-repolarização cardíaco traduz-se graficamente como ilustrado na figura 12.

Figura 12 – Ilustração de um traçado eletrocardiográfico representando um ciclo normal de despolarização – repolarização cardíaco
(adaptado de <http://www.hanfplantage.de/wie-giftig-spice-jwh-018-toxikologie-10-02-2010>)



A primeira deflexão na linha base do ECG é designada onda P e corresponde à despolarização atrial (French, 2008).

A segunda, onda Q, corresponde à despolarização do septo interventricular e é normalmente negativa; define-se como a primeira deflexão negativa que se segue à onda P na derivação II. A deflexão seguinte, maior e positiva, designada de onda R, traduz a despolarização das paredes ventriculares e define-se como a primeira deflexão positiva no complexo QRS na derivação II. A esta segue-se uma outra deflexão negativa, a onda S, representando a despolarização da porção basal do septo e parede livre ventriculares, que se define como a primeira deflexão negativa que se segue à onda R no complexo QRS na derivação II. As três últimas deflexões referidas são designadas conjuntamente como complexo QRS, considerando-se este como a representação da despolarização ventricular (French, 2008).

A última deflexão é designada onda T e corresponde à repolarização ventricular. Uma vez que a repolarização dos ventrículos não se dá numa direção fixa nos animais de companhia, esta onda tem nestes uma morfologia variável, podendo ser positiva, negativa, ou mesmo bifásica. A repolarização atrial não ocorre numa direção específica ou num padrão suficientemente ordenado para gerar um dipolo elétrico, portanto não surge no ECG nenhuma onda que lhe corresponda (French, 2008).

Interpretação

A avaliação do ECG deve incluir os seguintes passos (Fuentes et al., 2010):

- Verificar se há artefactos a alterar o traçado,
- Calcular a frequência cardíaca,
- Avaliar o ritmo,
- Avaliar a relação onda P/complexo QRS,
- Avaliar a morfologia das diferentes ondas,
- Medir as ondas e intervalos entre elas,
- Calcular o eixo elétrico cardíaco médio.

Artefactos

Artefactos comuns que podem surgir no traçado eletrocardiográfico são a interferência elétrica e o movimento ou tremor muscular.

A *interferência elétrica* aparece como ondulações ponteadas regulares na linha de base do ECG. Para corrigir esta alteração deve assegurar-se que há um bom contacto dos eléctrodos com o paciente, que este se encontra sobre uma superfície isoladora e que a máquina de ECG se encontra ligada à terra. Além disso deve desligar-se equipamento elétrico desnecessário que esteja presente na sala.

O *artefacto de movimento* consiste em defleções aleatórias na linha de base causadas por tremor, arfar, ronronar ou outro movimento do paciente. Pode ser minimizado pela contenção física do paciente numa posição que lhe seja confortável (a contenção química deve ser evitada pois pode alterar a frequência e ritmo cardíacos) (Fuentes et al., 2010).

Cálculo da frequência cardíaca

Pode ser feito medindo um intervalo de 6 segundos (15 cm em velocidade de papel de 25mm/s e 30 cm a 50mm/s), contando o número de complexos QRS neste período e multiplicando por 10 para obter o número de batimentos por minuto.

Se o ritmo for regular, a frequência pode obter-se, para uma velocidade de papel de 50mm/s, dividindo 3000 pelo número de quadrados pequenos num intervalo R – R (ou 1500 para a velocidade de papel 25mm/s). Este método também é útil para determinar a frequência de

taquicardia ventricular paroxística e outras arritmias de duração inferior a 3 segundos (Fuentes et al., 2010).

A avaliação da normalidade ou não de determinada frequência, além dos valores de referência, deve ter em conta o temperamento e o nível de ansiedade do animal aquando da realização do exame.

Os valores de frequência cardíaca considerados normais no cão consoante a idade e a raça estão listados na tabela 4. Em gatos, o intervalo de frequências consideradas normais é de 140-240 batimentos por minuto (bpm).

Tabela 4 – Frequências cardíacas normais em cães consoante a idade e porte.

Cães	Frequência cardíaca normal
Cachorro	≤ 220 bpm
Miniatura	≤ 180 bpm
Adulto médio	70-160 bpm
Gigante	60-140 bpm

Avaliação do ritmo

Um ritmo cardíaco normal em cães e gatos, caracterizado por um intervalo R – R consistente (variação da distância entre as ondas R inferior a 10%), com complexos de morfologia P-QRS-T normal, é designado ritmo sinusal. Cães normais (particularmente as raças braquicefálicas, que tendem a ter um tónus vagal mais elevado) apresentam comumente uma arritmia sinusal, que consiste na alteração rítmica no intervalo R -R que varia com os movimentos respiratórios (Fuentes et al., 2010).

Relação onda P/complexo QRS

Num eletrocardiograma normal, cada onda P deve ser seguida por um complexo QRS normal, numa relação de 1:1. Por exemplo, afeções que influenciem o local exato de geração do impulso no interior do nodo SA causam o chamado marca-passo errante, que surge no ECG como mudanças cíclicas na morfologia da onda P, podendo mesmo ocorrer que esta surja no interior do complexo QRS no caso de o marca-passo ectópico se situar no átrio esquerdo baixo. Também os artefactos na linha de base podem tornar difícil identificar cada onda P (Fuentes et al., 2010).

Avaliação da morfologia das ondas

- Onda P

Alterações na amplitude e duração das ondas P serão referidas abaixo na secção referente aos padrões de aumento de câmaras cardíacas.

Entretanto, não há uma duração ou amplitude mínima para esta onda, podendo nalguns casos ser indistinta. Neste caso deve procurar cuidadosamente a sua presença em cada uma das diferentes derivações.

As ondas P podem realmente estar ausentes em várias arritmias, como a fibrilhação atrial e a paragem atrial. Além disso podem, como anteriormente referido, estar sobrepostas a outras ondas, como acontece nas taquicardias ventricular e supraventricular.

A variação na amplitude destas ondas é um achado normal no cão, sendo consequência de alterações no tónus vagal (Fuentes et al., 2010).

- Complexo QRS

Os complexos normais são verticais e estreitos. Já os complexos originados nos ventrículos (ectópicos) surgem mais largos e de aparência bizarra. Isto acontece porque não são conduzidos pelo miocárdio pela via normal, mas sim célula a célula, o que demora mais tempo (Fuentes et al., 2010).

A morfologia dos complexos QRS, nomeadamente a amplitude de R, também pode ser afetada pela posição dos membros ou do próprio paciente. As ondas Q podem ser mais pronunciadas em pacientes jovens (Fuentes et al., 2010).

Além de aumento nas câmaras cardíacas (como será desenvolvido mais abaixo), anomalias na condução podem resultar em alterações na altura e/ou amplitude das ondas componentes do complexo QRS. Segue-se uma breve descrição das mesmas.

No *bloqueio do ramo esquerdo* do feixe de His há uma despolarização normal do ventrículo direito mas esta é retardada no ventrículo esquerdo, dando origem a complexos QRS altos e largos nas derivações I, II, III e aVF (mais de 0.08 segundos em cães e mais de 0.06 segundos em gatos) e negativos nas derivações aVL e aVR. Este caso pode ser difícil de distinguir de um padrão de aumento ventricular esquerdo (Fuentes et. al, 2010).

No *bloqueio do ramo direito* do feixe de His há despolarização normal do ventrículo esquerdo mas esta é retardada no ventrículo direito, originando QRSs prolongados que são negativos (presença de ondas S) nas derivações I, II, III e aVF e positivos nas derivações aVR e aVL (Fuentes et al., 2010).

O *bloqueio fascicular anterior esquerdo* é um déficit de condução mais comum em gatos com doença cardíaca e consiste numa falha na condução do impulso elétrico através do fascículo anterior do ramo esquerdo. Resulta normalmente em complexos QRS de duração normal mas com ondas R altas nas derivações I e aVL e ondas S profundas nas derivações II, III e aVF. O eixo elétrico médio tende a estar desviado para a esquerda, e daí resulta uma onda R mais alta na derivação aVL (Fuentes et al. 2010).

QRSs “serrados” ou “entalhados” (*notched*) podem ser comumente encontrados em pequenos animais com doença cardíaca, mas o significado clínico desta alteração é controversa. O “entalhamento” do complexo QRS pode encontrar-se em cães com displasia da tricúspide e pré-excitação dos ventrículos por uma via acessória. Pode estar também associado a enfarte miocárdico intramural microscópico ou fibrose do ventrículo (Fuentes et al., 2010).

Complexos QRS de baixa voltagem podem dever-se a efusão pleural ou pericárdica, massas intratorácicas, obesidade ou hipotireoidismo. Contudo, estão mais frequentemente associadas ao mau contacto dos eléctrodos com o paciente (meio condutor insuficiente), conformação de peito largo e pelagem espessa (Fuentes et al., 2010).

A *alternância elétrica* (*electrical alternans*) é uma alteração regular na amplitude do complexo QRS que geralmente se verifica batimento-sim, batimento-não. Pode encontrar-se em cães ofegantes, com derrame pericárdico (presumivelmente associado ao balanço do coração no líquido de derrame), com algumas taquicardias supraventriculares e mesmo, ocasionalmente, em animais normais (Fuentes et al., 2010).

Medição de ondas e intervalos

Na tabela 5 estão indicados os valores normais das várias medições que devem ser efetuadas.

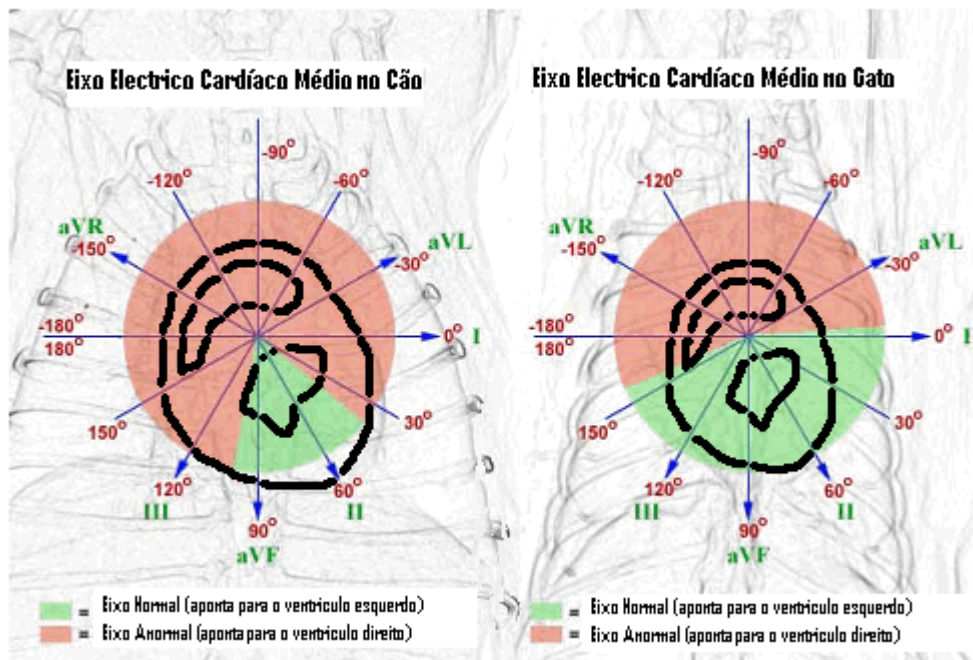
Tabela 5 – Parâmetros electrocardiográficos e seus valores normais no cão.

PARÂMETRO	Valores de referência no cão
<i>Duração da onda P</i>	$\leq 0,04$ s
<i>Amplitude da onda P</i>	$\leq 0,4$ mv
<i>Intervalo P-R</i>	0,06 – 0,13 s
<i>Duração do complexo QRS</i>	$\leq 0,05$ s
<i>Amplitude da onda R</i>	$\leq 2,5$ mv
<i>Segmento S-T</i>	Depr. $\leq 0,2$ mv Elev. $\leq 0,15$ mv
<i>Amplitude da onda T</i>	$< \frac{1}{4}$ R
<i>Intervalo Q-T</i>	0,15 – 0,25 s
<i>Eixo elétrico cardíaco médio</i>	De 40° a 100°

Cálculo do Eixo Elétrico Cardíaco Médio

Este eixo consiste no vetor resultante de despolarização do músculo cardíaco e é aproximadamente na direção da derivação com a maior amplitude de R. Em cães é geralmente entre +40 e +100 graus, e no gato entre 0 e +160 graus. Pode ser determinado usando as seis derivações padrão e o sistema de eixos de Bailey (ilustrado na figura 13). Se há uma derivação com complexos QRS isoeletrícos, o eixo elétrico do coração corresponde à derivação no sistema de eixos de Bailey perpendicular a essa derivação (Fuentes et al., 2010).

Figura 13 – Sistema de eixos de Bailey com delimitação das “regiões” em que o eixo cardíaco é normal ou anormal no cão e no gato (adaptado de <http://www.vetnext.com/search.php?s=onderwerp&id=73357749446%20278>)



Outra forma de determinar o eixo elétrico é representar no sistema de eixos a amplitude líquida do complexo QRS na derivação I (no eixo horizontal) e a amplitude líquida de um complexo QRS da derivação aVF (no eixo vertical). A interseção entre estas resultará num vetor que iguala o eixo elétrico cardíaco médio (Fuentes et al., 2010).

Um valor mais exacto pode ser obtido pelo uso das tabelas de Tilley (apresentadas na figura 14) e das derivações I e III do eletrocardiograma. Para começar contam-se as quadrículas positivas do complexo QRS na derivação I, subtraindo os negativos. Procede-se da mesma forma para a derivação III. Com este resultado, poderemos consultar as tabelas, obtendo o valor exato do eixo cardíaco (Tilley, 1992)

Figura 14 - Tabelas matemáticas para o cálculo do eixo cardíaco (Tilley, 1992).

Tabela de Tilley - Derivação I Negativa, Derivação III Positiva

Derivação III Positiva	Derivação I Negativa																					
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0	13,0	14,0	15,0	20,0
0,0		-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150
0,5	90	150	180	-169	-164	-161	-159	-158	-157	-156	-155	-154	-154	-153	-153	-153	-152	-152	-152	-152	-152	-151
1,0	90	120	150	169	180	-173	-169	-166	-164	-162	-161	-159	-158	-157	-156	-155	-155	-154	-154	-154	-153	-153
1,5	90	109	131	150	164	173	180	-175	-172	-169	-167	-164	-162	-160	-159	-158	-157	-157	-156	-156	-155	-154
2,0	90	104	120	136	150	161	169	175	180	-176	-173	-169	-166	-164	-162	-161	-160	-159	-158	-158	-157	-155
2,5	90	101	113	127	139	150	159	166	172	176	180	-174	-171	-168	-166	-164	-163	-161	-160	-160	-159	-157
3,0	90	99	109	120	131	141	150	158	164	169	173	180	-175	-172	-169	-167	-165	-164	-163	-162	-161	-158
3,5	90	98	106	115	125	134	142	150	157	162	167	174	-180	-176	-173	-170	-168	-166	-165	-164	-163	-159
4,0	90	97	104	112	120	128	136	143	150	156	161	169	175	180	-176	-173	-171	-169	-167	-166	-165	-161
4,5	90	96	102	109	116	124	131	138	144	150	155	164	171	176	180	-177	-174	-172	-170	-168	-167	-162
5,0	90	95	101	107	113	120	127	133	139	145	150	159	166	172	176	180	-177	-174	-172	-171	-169	-164
6,0	90	94	99	104	109	114	120	126	131	136	141	150	158	164	169	173	177	180	-177	-175	-173	-167
7,0	90	94	98	102	106	111	115	120	125	129	134	142	150	157	162	167	171	174	177	180	-178	-170
8,0	90	93	97	100	104	108	112	116	120	124	128	136	143	150	156	161	165	169	172	175	178	-173
9,0	90	93	96	99	102	106	109	113	116	120	124	131	138	144	150	155	160	164	167	171	173	-177
10,0	90	93	95	98	101	104	107	110	113	117	120	127	133	139	145	150	155	159	163	166	169	180
11,0	90	92	95	97	100	103	105	108	111	114	117	123	129	135	140	145	150	154	158	162	165	177
12,0	90	92	94	97	99	101	104	106	109	112	114	120	126	131	136	141	146	150	154	158	161	173
13,0	90	92	94	96	98	100	103	105	107	110	112	117	123	128	133	137	142	146	150	154	157	170
14,0	90	92	94	96	98	100	102	104	106	108	111	115	120	125	129	134	138	142	146	150	153	167
15,0	90	92	93	95	97	99	101	103	105	107	109	113	118	122	127	131	135	139	143	147	150	164
20,0	90	92	93	94	95	97	98	99	101	102	104	107	110	113	117	120	123	127	130	133	136	150

Tabela de Tilley - Derivação I Positiva, Derivação III Negativa

Derivação III Negativa	Derivação I Positiva																					
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0	13,0	14,0	15,0	20,0
0,0		30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
0,5	-90	-30	0	11	16	19	21	22	23	24	25	26	26	27	27	27	28	28	28	28	28	29
1,0	-90	-60	-30	-11	0	7	11	14	16	18	19	21	22	23	24	25	25	26	26	26	27	27
1,5	-90	-71	-49	-30	-16	-7	0	5	7	11	13	16	18	20	21	22	23	23	24	24	25	26
2,0	-90	-76	-60	-44	-30	-19	-11	-5	0	4	7	11	14	16	18	19	20	21	22	22	23	25
2,5	-90	-79	-67	-53	-41	-30	-21	-14	-8	-4	0	6	9	12	14	16	17	19	20	20	21	23
3,0	-90	-81	-71	-60	-49	-39	-30	-22	-16	-11	-7	0	5	8	11	13	15	16	17	18	19	22
3,5	-90	-82	-74	-65	-55	-46	-38	-30	-23	-18	-13	-6	0	4	7	10	12	14	15	16	17	21
4,0	-90	-83	-76	-68	-60	-52	-44	-37	-30	-24	-19	-11	-5	0	4	7	9	11	13	14	15	19
4,5	-90	-84	-76	-71	-64	-56	-49	-42	-36	-30	-25	-16	-9	-4	0	3	6	8	10	12	13	18
5,0	-90	-85	-79	-73	-67	-60	-53	-47	-41	-35	-30	-21	-14	-8	-4	0	3	6	8	9	11	16
6,0	-90	-86	-81	-76	-71	-66	-60	-54	-49	-44	-39	-30	-22	-16	-11	-7	-3	0	3	5	7	13
7,0	-90	-86	-82	-78	-74	-69	-65	-60	-55	-51	-46	-38	-30	-23	-18	-13	-9	-6	-3	0	2	10
8,0	-90	-87	-83	-80	-76	-72	-68	-64	-60	-56	-52	-44	-37	-30	-24	-19	-15	-11	-8	-5	-2	7
9,0	-90	-87	-84	-81	-78	-74	-71	-67	-64	-60	-56	-49	-42	-36	-30	-25	-20	-16	-13	-9	-7	3
10,0	-90	-87	-85	-82	-79	-76	-73	-70	-67	-63	-60	-53	-47	-41	-35	-30	-25	-21	-17	-14	-11	0
11,0	-90	-88	-85	-83	-80	-77	-75	-72	-69	-66	-63	-57	-51	-45	-40	-35	-30	-26	-22	-18	-15	-3
12,0	-90	-88	-86	-83	-81	-79	-76	-74	-71	-68	-66	-60	-54	-49	-44	-39	-34	-30	-26	-22	-19	-7
13,0	-90	-88	-86	-84	-82	-80	-77	-75	-73	-70	-68	-63	-57	-52	-47	-43	-38	-34	-30	-26	-23	-10
14,0	-90	-88	-86	-84	-82	-80	-78	-76	-74	-72	-69	-65	-60	-55	-51	-46	-42	-38	-34	-30	-27	-13
15,0	-90	-88	-87	-85	-83	-81	-79	-77	-75	-73	-71	-67	-62	-58	-53	-49	-45	-41	-37	-33	-30	-16
20,0	-90	-89	-87	-86	-85	-83	-82	-81	-79	-78	-76	-73	-70	-67	-63	-60	-57	-53	-50	-47	-44	-30

Tabela de Tilley - Derivação I Positiva, Derivação III Positiva

Derivação I Positiva																							
Derivação III Positiva	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0	13,0	14,0	15,0	20,0	
0,0		30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	
0,5	90	60	49	44	41	39	38	37	36	35	35	34	33	33	33	32	32	32	32	32	32	31	
1,0	90	71	60	53	49	46	44	42	41	40	39	38	37	36	35	35	34	34	34	33	33	32	
1,5	90	76	67	60	55	52	49	47	45	44	43	41	39	38	38	37	36	36	36	35	35	33	
2,0	90	79	71	65	60	56	53	51	49	47	46	44	42	41	40	39	38	38	37	37	36	35	
2,5	90	81	74	68	64	60	57	54	52	51	49	47	45	43	42	41	40	39	39	38	38	36	
3,0	90	82	76	71	67	63	60	57	55	53	52	49	47	45	44	43	42	41	40	39	39	37	
3,5	90	83	78	73	69	66	63	60	58	56	54	51	49	47	46	44	43	42	42	41	40	38	
4,0	90	84	79	75	71	68	65	62	60	58	56	53	51	49	47	46	45	44	43	42	42	39	
4,5	90	85	80	76	73	69	67	64	62	60	58	55	53	51	49	48	47	45	44	43	43	40	
5,0	90	85	81	77	74	71	68	66	64	62	60	57	55	52	51	49	48	47	46	45	44	41	
6,0	90	86	82	79	76	73	71	69	67	65	63	60	57	55	53	52	50	49	48	47	46	43	
7,0	90	87	83	81	78	75	73	71	69	67	65	63	60	58	56	54	53	51	50	49	48	44	
8,0	90	87	84	82	79	77	75	73	71	69	68	65	62	60	58	56	55	53	52	51	50	46	
9,0	90	87	85	82	80	78	76	74	73	71	69	67	64	62	60	58	57	55	54	53	52	48	
10,0	90	88	85	83	81	79	77	76	74	72	71	68	66	64	62	60	58	57	56	54	53	49	
11,0	90	88	86	84	82	80	78	77	75	73	72	70	67	65	63	62	60	59	57	56	55	50	
12,0	90	88	86	84	82	81	79	78	76	75	73	71	69	67	65	63	61	60	59	57	56	52	
13,0	90	88	86	84	83	81	80	78	77	76	74	72	70	68	66	64	63	61	60	59	58	53	
14,0	90	88	87	85	83	82	80	79	78	77	75	73	71	69	67	66	64	63	61	60	59	55	
15,0	90	88	87	85	84	82	81	80	78	77	76	74	72	70	68	67	65	64	62	61	60	55	
20,0	90	89	88	87	85	84	83	82	81	80	79	77	76	74	72	71	70	68	67	65	65	60	

Tabela de Tilley - Derivação I Negativa, Derivação III Negativa

Derivação III Negativa	Derivação I Negativa																					
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0	13,0	14,0	15,0	20,0
0,0	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150	-150
0,5	-90	-120	-131	-136	-139	-141	-142	-143	-144	-145	-145	-146	-147	-147	-147	-148	-148	-148	-148	-148	-148	-149
1,0	-90	-109	-120	-127	-131	-134	-136	-138	-139	-140	-141	-142	-143	-144	-145	-145	-146	-146	-146	-147	-147	-148
1,5	-90	-104	-113	-120	-125	-128	-131	-133	-135	-136	-137	-139	-141	-142	-142	-143	-144	-144	-144	-145	-145	-147
2,0	-90	-101	-109	-115	-120	-124	-127	-129	-131	-133	-134	-136	-138	-139	-140	-141	-142	-142	-143	-143	-144	-145
2,5	-90	-99	-106	-112	-116	-120	-123	-126	-128	-129	-131	-133	-135	-137	-138	-139	-140	-141	-141	-142	-142	-144
3,0	-90	-98	-104	-109	-113	-117	-120	-123	-125	-127	-128	-131	-133	-135	-136	-137	-138	-139	-140	-141	-141	-143
3,5	-90	-97	-102	-107	-111	-114	-117	-120	-122	-124	-124	-129	-131	-133	-134	-136	-137	-138	-138	-139	-140	-142
4,0	-90	-96	-101	-105	-109	-112	-115	-118	-120	-122	-124	-127	-129	-131	-133	-134	-135	-136	-137	-138	-138	-141
4,5	-90	-95	-100	-104	-107	-111	-113	-116	-118	-120	-122	-125	-127	-129	-131	-132	-133	-135	-136	-137	-137	-140
5,0	-90	-95	-99	-103	-106	-109	-112	-114	-116	-118	-120	-123	-125	-128	-129	-131	-132	-133	-134	-135	-136	-139
6,0	-90	-94	-98	-101	-104	-107	-109	-111	-113	-115	-117	-120	-123	-125	-127	-128	-130	-131	-132	-133	-134	-137
7,0	-90	-93	-97	-99	-102	-105	-107	-109	-111	-113	-115	-117	-120	-122	-124	-126	-127	-129	-130	-131	-132	-136
8,0	-90	-93	-96	-98	-101	-103	-105	-107	-109	-111	-112	-115	-118	-120	-122	-124	-125	-127	-128	-129	-130	-134
9,0	-90	-93	-95	-98	-100	-102	-104	-106	-107	-109	-111	-113	-116	-118	-120	-122	-123	-125	-126	-127	-128	-132
10,0	-90	-92	-95	-97	-99	-101	-103	-104	-106	-108	-109	-112	-114	-116	-118	-120	-122	-123	-124	-126	-127	-131
11,0	-90	-92	-94	-96	-98	-100	-102	-103	-105	-107	-108	-110	-113	-115	-117	-118	-120	-121	-123	-124	-125	-130
12,0	-90	-92	-94	-96	-98	-99	-101	-102	-104	-105	-107	-109	-111	-113	-115	-117	-119	-120	-121	-123	-124	-128
13,0	-90	-92	-94	-96	-97	-99	-100	-102	-103	-104	-106	-108	-110	-112	-114	-116	-117	-119	-120	-121	-122	-127
14,0	-90	-92	-93	-95	-97	-98	-100	-101	-102	-103	-105	-107	-109	-111	-113	-114	-116	-117	-119	-120	-121	-125
15,0	-90	-92	-93	-95	-96	-98	-99	-100	-102	-103	-104	-106	-108	-110	-112	-113	-115	-116	-118	-119	-120	-125
20,0	-90	-91	-92	-93	-95	-96	-97	-98	-99	-100	-101	-103	-104	-106	-108	-109	-110	-112	-113	-115	-115	-125

Padrões indicativos de aumento de câmaras cardíacas

Átrio esquerdo

Quando aumentado pode originar uma onda P prolongada e, por vezes, serrada (*notched*), designada *P-mitrale* (Fuentes et al., 2010).

Átrio direito

O seu aumento pode originar um aumento na amplitude de P, especialmente nas derivações II, III e aVF; esta alteração designa-se *P-pulmonale*. Doença pulmonar crónica pode resultar no aparecimento de uma onda *P-pulmonale* na ausência de doença cardíaca (Fuentes et al., 2010).

Ventrículo esquerdo

Sinais eletrocardiográficos do seu aumento incluem ondas R altas nas derivações II, III e aVF e ocasionalmente, quando grave, prolongamento do complexo QRS. No cão, uma amplitude da onda R maior que 3.0 mV (2.5 mV em raças pequenas) nas derivações II e aVf, e maior que 1.5mV na derivação I são indicativos. Além disso, a soma das amplitudes de onda R nas derivações I e aVf surge maior que 4.0 mV. No gato, o aumento do ventrículo esquerdo surge como uma amplitude de onda R maior que 0.9 mV na derivação II. O aumento da duração do QRS é também um sinal de aumento desta câmara, sendo considerado como mais de 0.06s em cães grandes, 0.05s em cães pequenos e 0.04s em gatos. Outros sinais são um segmento ST indistinto ou arqueado, e um desvio do eixo elétrico cardíaco médio para a esquerda (menos de 40° para o cão, menos de 0° para o gato) (Fuentes et al., 2010).

Ventrículo direito

Quando aumentado, podem surgir no ECG ondas S nas derivações I, II, III e aVF e um desvio do eixo cardíaco para a direita. No cão, uma onda S de amplitude 0.05 mV na derivação I e e/ou 0.35 mV na derivação II são sinais indicativos (Fuentes et al., 2010).

3.3. Sinais ecocardiográficos de remodelação

Sendo um exame seguro e versátil, a ecocardiografia é uma das ferramentas mais úteis para a avaliação da doença cardíaca. A capacidade da ecografia para diferenciar o tecido mole (miocárdio) do fluido (sangue) permite uma fácil avaliação da estrutura, tamanho e proporções relativas das câmaras e paredes cardíacas, das válvulas, dos grandes vasos, do desempenho cardíaco e da presença de derrame pericárdico. Não obstante, os achados ecocardiográficos devem ser sempre interpretados à luz de outros achados clínicos, radiográficos e eletrocardiográficos, sendo todos eles integrados e interpretados de modo a constituir uma “história” plausível (Schwarz & Johnson, 2009).

Existem várias modalidades de ecocardiografia.

- A *ecocardiografia em modo M* limita-se a fornecer informação duma única dimensão linear. O cursor é alinhado usando uma imagem bidimensional e a ação das estruturas anatómicas da zona do coração cruzada pelo cursor é representada em função do tempo. Este modo tem uma resolução temporal excelente para efetuar medições das dimensões cardíacas em diferentes pontos temporais. Tem, contudo, a desvantagem de a área de observação ser limitada, obtendo-se pouca informação acerca de alterações no tamanho ou forma cardíacos noutras dimensões, ou acerca de lesões específicas. É também bastante exigente em termos técnicos. A ecocardiografia em modo M é amplamente utilizada para medir diâmetros ventriculares esquerdos (Schwarz & Johnson, 2009).
- Na *ecografia bidimensional (2D)* podem observar-se cortes tomográficos do coração. É muito versátil pois podem obter-se vários cortes do coração fornecendo diferentes planos de imagem. Deste modo, esta modalidade ecocardiográfica permite demonstrar anomalias no tamanho e forma cardíacos assim como lesões. Hoje em dia muitos ecografos têm já qualidade suficiente para que se possam obter medições diretamente do modo bidimensional, sem ser necessário recorrer ao modo M. Além disso, esta modalidade fornece muita informação qualitativa (Schwarz & Johnson, 2009).
- A *ecocardiografia Doppler* fornece informação acerca da velocidade e direção do fluxo sanguíneo. Baseia-se no princípio de Doppler, segundo o qual a frequência das ondas sonoras refletidas é alterada quando o alvo refletor se aproxima ou se afasta da fonte. É criticamente dependente do ângulo: o feixe de ultrasons tem de ser paralelo à direção do alvo em movimento, neste caso à direção do fluxo sanguíneo (Schwarz & Johnson, 2009).
 - Com o *Doppler espectral*, a velocidade é representada num gráfico velocidade/tempo, sendo que o fluxo que se afasta do transdutor é representado

abaixo da linha base e o fluxo no sentido do transdutor acima da linha base. Para todas as formas de Doppler espectral o mais importante a ter em conta é alinhar o cursor paralelamente ao fluxo sanguíneo ou o pico de velocidade será subestimado. O Doppler espectral varia consoante a área amostrada (Schwarz & Johnson, 2009).

- Na *ecocardiografia Doppler de onda pulsada* é amostrada uma área bastante limitada de fluxo. Numa região de interesse definida, regista-se velocidades num local específico usando a imagem 2D como guia. Isto permite uma localização precisa das velocidades do fluxo sanguíneo, mas restringe o máximo de velocidade que pode ser mostrado de forma não ambígua. O fluxo de alta velocidade não pode ser registado com precisão pois resulta em *aliasing*, fenómeno em que o gráfico de velocidade “envolve” a linha base (Schwarz & Johnson, 2009).
- No *Doppler de onda contínua* o fluxo sanguíneo é amostrado a todo o comprimento do cursor. Isto permite que velocidades muito mais altas sejam medidas mas existe “ambiguidade de alcance” uma vez que a localização exacta do fluxo de alta velocidade não pode ser determinada a partir do sinal espectral (Schwarz & Johnson, 2009).

A velocidade do fluxo depende primariamente do gradiente de pressão e pode ser estimada usando a equação de Bernoulli simplificada (Schwarz & Johnson, 2009):

$$\text{Gradiente de Pressão (mmHg)} = 4 \times \text{velocidade}^2$$

- O *Doppler de cor* pode resolver alguns dos problemas de ambiguidade encontrados com o Doppler de onda contínua, uma vez que fluxos de alta velocidade ou turbulentos são representados como cores diferentes sobrepostas à imagem 2D a preto e branco. O fluxo no sentido do transdutor é codificado como vermelho e o fluxo que se afasta do transdutor como azul. Pode ainda ocorrer *aliasing* a velocidades elevadas, aparecendo representada como inversão da cor (de vermelho para azul ou de azul para vermelho). Variância ocorre no caso de fluxo turbulento (geralmente representado como verde) (Schwarz & Johnson, 2009).

3.3.1. Medições de Câmaras

Embora a avaliação quantitativa das dimensões e função cardíacas seja importante, estas devem ser sempre interpretadas no contexto da informação qualitativa.

As medições são mais importantes na avaliação do coração esquerdo, não só porque tem uma forma mais fácil de quantificar que o direito, como também porque as doenças adquiridas mais importantes afetam primariamente o coração esquerdo. Regra geral, as medições devem ser feitas em três ciclos cardíacos, calculando depois a média (Schwarz & Johnson, 2009).

- **Átrio esquerdo**

A quantificação do tamanho do átrio esquerdo é muito importante uma vez que se relaciona fortemente com o risco de desenvolver edema pulmonar e sinais clínicos.

No modo M, deve medir-se o diâmetro do átrio esquerdo no final da sístole e o diâmetro da aorta no início do complexo QRS, calculando então o rácio entre o primeiro e o segundo valor (AE:Ao). O valor deste rácio em cães e gatos deve ser inferior a 1.3 (Schwarz & Johnson, 2009).

Em modo 2D, num corte de eixo curto e no início da diástole (quando as valvas da válvula aórtica se encontram fechadas), deve medir-se o diâmetro da aorta desde a cúspide coronária direita até à comissura entre as cúspides esquerda e não coronária, e o diâmetro do átrio esquerdo desde a linha que se estende a partir da medição aórtica até à parede atrial, tentando evitar a veia pulmonar. As medições devem ser feitas entre os limites interiores. Calcula-se então o rácio AE:Ao, que nos cães deve ser inferior a 1.6 e nos gatos inferior a 1.5 (Schwarz & Johnson, 2009).

Em modo 2D num corte de eixo longo, deve efetuar-se a medição no final da sístole entre os limites interiores do átrio esquerdo, desde o septo interatrial à superfície epicárdica da parede livre, bisetando o átrio. A medição da aorta deve efectuar-se em sístole, entre as valvas aórticas abertas, entre os limites interiores do vaso. No cão, o rácio AE:Ao neste caso deve ser inferior a 2.5. No gato, o diâmetro medido do átrio esquerdo deve ser inferior a 1.6 cm (Schwarz & Johnson, 2009).

- **Ventrículo Esquerdo**

Para avaliar o tamanho ventricular esquerdo mede-se geralmente o diâmetro, o volume, o índice de esfericidade e a espessura da parede ventricular.

Para quantificar o *diâmetro* do ventriculo esquerdo usa-se ainda, principalmente, a ecocardiografia em modo M. A desvantagem é que, neste modo, pode ser difícil reconhecer

cortes oblíquos. O diâmetro medido difere consoante foi usado um corte 2D em eixo longo ou em eixo curto para obter o modo M. O modo M não deve ser usado para derivar volumes ventriculares esquerdos. Os intervalos de referência normais em cães são problemáticos devido à grande variação que existe em termos de peso corporal e conformação. Os métodos usados para compensar estes problemas incluem índices de rácio, método Cornell e valores específicos de raça. Os rácios podem ser usados tanto para os diâmetros ventriculares esquerdos como para o átrio esquerdo. O rácio entre o diâmetro ventricular esquerdo e o diâmetro aórtico é relativamente consistente. O método de Cornell usa um cálculo semelhante mas considerando que a relação entre o peso corporal e o diâmetro ventricular não é linear. Os diâmetros são calculados com base na normalização do diâmetro aproximadamente à raiz cúbica do peso corporal (Schwarz & Johnson, 2009):

- DIVED calculado = DIVED x 1.53 x peso^{0,294}
- DIVEs calculado = DIVEs x 0.95 x peso^{0,315}

Os valores específicos de raça são a fonte ideal de valores de referência, sendo preferidos quando disponíveis.

Para calcular o volume ventricular pode ser usada a ecocardiografia 2D, não devendo nunca ser usado o modo M. É normalmente usado o plano paraesternal direito e deve ter-se o cuidado de incluir na imagem o verdadeiro ápex da câmara, o que requer prática. É contornado o bordo endocardial do ventrículo esquerdo, ignorando os músculos papilares e desenhando uma linha reta sobre o anulo da mitral. O volume é calculado utilizando uma técnica modificada de Simpson (método de discos) ou uma fórmula área-comprimento. O volume sistólico final e volume diastólico final do VE varia de acordo com o tamanho e a raça. Os volumes podem ser normalizados dividindo pela área de superfície corporal para produzir índices de volume diastólico final e de volume sistólico final (Schwarz & Johnson, 2009).

Uma forma alternativa para identificar remodelação do ventrículo esquerdo é procurando uma alteração na geometria além da medição do diâmetro absoluto. Isto pode ser feito observando se há um aumento no diâmetro do VE em relação ao seu comprimento. O rácio entre os eixos longo e curto do VE é chamado o *índice de esfericidade*. Valores reduzidos indicam um VE mais esférico. As dimensões do eixo curto podem ser obtidas no modo M e as do eixo longo em modo 2D, sendo normalmente usadas dimensões diastólicas. Idealmente, devem ser derivados valores para cada raça. Cães de peito profundo têm corações mais alongados e o índice de esfericidade normal pode ser superior ao valor de referência 1.7 geralmente usado (Schwarz & Johnson, 2009).

A espessura da parede ventricular é uma medição muito mais importante de ser feita nos gatos que nos cães, embora a estenose aórtica e a hipertensão sistêmica nestes últimos possam resultar em hipertrofia do VE. Os critérios usados para hipertrofia do VE são variáveis, mas qualquer que seja a técnica usada, é muito importante que as medições sejam retiradas no final da diástole, já que em qualquer outro ponto do ciclo se corre o risco de sobreestimar a espessura da parede. A medição em modo M tem como limitação abarcar apenas uma área da parede livre e do septo, o que pode levar à não detecção de alterações hipertróficas noutras áreas do ventrículo. Tendo isto em conta, muitos operadores usam um valor limite de <5.5mm como normal, refletindo a sensibilidade reduzida do modo M para a detecção de hipertrofia. É também difícil evitar os músculos papilares, o que pode levar ao registo de falsos aumentos de espessura da parede livre. A ecocardiografia 2D permite a medição de hipertrofia noutras áreas. A espessura de parede máxima é medida em até três vistas. É mais fácil de evitar a inclusão de músculos papilares neste modo. Em cães, o método de Cornell é provavelmente o melhor para identificar hipertrofia (Schwarz & Johnson, 2009):

- $ESId \text{ calculada} = ESI \times 0.41 \times \text{peso}^{0.241}$
- $EPLVEd \text{ calculada} = EPLVEd \times 0.42 \times \text{peso}^{0.232}$

3.3.1. Função Sistólica

A medição da função sistólica é particularmente importante no diagnóstico da cardiomiopatia dilatada, mas também pode encontrar-se anormal em outras afeções.

A maioria dos métodos ecocardiográficos de medição da função sistólica são muito afetados pelas condições de carga, sendo que o movimento da parede do ventrículo esquerdo vai encontrar-se aumentado quando há um aumento da pré-carga e uma redução da pós-carga. Isto é particularmente importante quando existe regurgitação mitral, onde o efeito da própria regurgitação na pré e pós carga vão resultar num ventrículo esquerdo hiperdinâmico, podendo mascarar uma disfunção sistólica subjacente (Fuentes et al., 2010).

- **Fração de encurtamento (FS – *fractional shortening*)**

Trata-se da percentagem de alteração do ventrículo esquerdo em sístole. É geralmente medido a partir de uma imagem em modo-M obtida de um corte de eixo curto. É o valor mais comum usado para avaliar a função sistólica, mas não deve ser usado por si só se os valores estiverem abaixo dos valores de referência normais. Outros valores de indicadores de função sistólica devem também ser usados adicionalmente para diagnosticar uma disfunção. Uma dilatação

concomitante do ventrículo esquerdo também aumenta a suspeita de que uma disfunção sistólica detetada por este meio seja genuína (Fuentes et al. 2010).

É um valor percentual, função dos diâmetros dos valores DIVEd e DIVEs segundo a fórmula: $(DIVEd - DIVEs) / DIVEd \times 100$, sendo o valor normal entre 25-50% no cão.

- **EPSS (mitral *E-point to septal separation*)**

Obtém-se medindo a distância entre o septo e o ponto de máxima abertura da valva anterior da mitral (ponto E). Encontra-se aumentada quando existe disfunção sistólica, embora seja menos utilizada que a fração de encurtamento. É um dos critérios menores a considerar no diagnóstico e estadiamento da cardiomiopatia dilatada. O valor normal em cães grandes é <7mm (Fuentes et al., 2010).

- **Índice de volume sistólico final do ventrículo esquerdo**

Volume correspondente à menor dimensão do ventrículo esquerdo antes da abertura da válvula mitral (ESV – *end-systolic volume*), normalizado em relação à área da superfície corporal. São frequentemente citados valores normais de $\leq 30 \text{ ml/m}^2$ mas tal pode não ser válido para raças de cão mais pequenas (Fuentes et al., 2010).

- **Fração de ejeção (EF – *ejection fraction*)**

É calculada a partir da fórmula $EF = (EDV - ESV) / EDV \times 100$, sendo que EDV corresponde ao volume diastólico final (EDV – *end-diastolic volume*), devendo ser medido logo após os fecho da válvula mitral, imediatamente antes da sístole.

A variação percentual no volume do ventrículo esquerdo durante a sístole pode ser calculada a partir dos volumes medidos numa vista direita parasternal de eixo longo. Este valor não deve ser derivado de volumes estimados a partir de medições em modo-M.

O valor normal no cão situa-se entre os 50 e os 65% (Fuentes et al., 2010).

- **Períodos sistólicos**

O intervalo entre a onda Q do ECG e o início da ejeção de sangue através da aorta é designado por o período de pré-ejeção (PEP – *pre-ejection period*). Este valor pode ser dividido pelo período de ejeção (ET – *ejection time*) para obter o rácio PEP/ET, que se encontra aumentado quando existe disfunção sistólica. Estes valores podem ser medidos a partir do Doppler espectral com ECG simultâneo. Assim como os anteriores índices ecocardiográficos de função, o rácio PEP/ET deve ser interpretado à luz de outras alterações cardíacas, uma vez que pode ser afetado pelas condições de carga e frequência cardíaca (Fuentes et al., 2010).

Componente Prática

Introdução

Nos cães as doenças cardíacas adquiridas afetam mais frequentemente o lado esquerdo do coração (Fuentes et al. 2010). Além disso, a dilatação do átrio esquerdo relaciona-se fortemente com o risco de desenvolvimento de edema pulmonar, e a modificação da geometria ventricular esquerda associa-se com um aumento da morbidade e mortalidade em pacientes com doença cardíaca. Por estas razões, a avaliação correta das dimensões do coração esquerdo é tão importante em Medicina Veterinária.

A ecocardiografia é um meio de diagnóstico essencial para a avaliação das doenças cardiovasculares. As medidas anatómicas obtidas usando esta técnica são particularmente importantes para identificar sinais de remodelação cardíaca e de disfunção. Embora alguns estudos (Folland et al., 1979; Lessick et al., 2005; Sugeng et al., 2006; Cosyns et al., 2009) tenham mostrado que as medidas ecocardiográficas têm várias limitações, um estudo mais recente, usando como *gold standard* a tomografia computadorizada *double-source* (DSCT), concluiu que as medições feitas no exame ecocardiográfico são tão exatas como aquelas obtidas na DSCT, com exceção da espessura do septo interventricular e da espessura parietal posterior do ventrículo esquerdo no fim da diástole (Park et al., 2012).

No exame radiográfico torácico, o método da escala vertebral (VHS) é uma ferramenta muito útil para avaliar a presença de cardiomegália. Foi demonstrado que pode ser estabelecida com grande uniformidade por observadores experientes (Nakayama, Nakayama & Hamlin, 2001), mas também que depende mais da seleção de pontos de referência de cada observador individual do que do nível de experiência do mesmo (Hansson, Häggström, Kvart & Lord, 2005). Um estudo anterior, realizado em Beagles com cardiomegália induzida por *pacemaker*, demonstrou que o VHS nestes apresentava uma correlação positiva significativa com a razão átrio esquerdo/aorta, o diâmetro ventricular esquerdo em diástole e o diâmetro ventricular esquerdo em sístole como medidos na ecocardiografia, e com a duração da onda P e do complexo QRS como medidos no eletrocardiograma (Nakayama et al., 2001).

O presente estudo tem como objetivo avaliar até que ponto o VHS obtido a partir do exame radiográfico é uma alternativa aceitável à ecocardiografia na avaliação das dimensões do átrio e ventrículo esquerdos. Para tal, pretende-se avaliar a existência ou não de correlação entre o

valor VHS medido na radiografia com os parâmetros ecocardiográficos indicadores da dimensão das câmaras cardíacas (AE/Ao, DIVEd, DIVEs). Pesquisa-se também a existência de correlação entre o VHS e, respetivamente, o EPSS e o FS. Ambos são parâmetros de função sistólica que tendem a encontrar-se alterados quando existe dilatação cardíaca – o primeiro aumentado e o segundo, geralmente, reduzido. (Fuentes et al., 2010).

Materiais e métodos

A amostra utilizada para a realização deste estudo retrospectivo é constituída pelos cães que se apresentaram à consulta no Hospital Veterinário Muralha de Évora (HVME), entre Julho de 2009 e Junho de 2013, tendo realizado, como parte do plano diagnóstico, radiografia torácica e ecocardiografia com não mais de cinco dias de diferença entre os dois exames.

Foram excluídos aqueles animais que, pela conformação anatómica particular da sua raça, dificultaram a correta avaliação radiográfica das dimensões cardíacas, assim como aqueles que efetuaram apenas um exame ecocardiográfico sumário.

Satisfazendo estes critérios, obteve-se uma amostra constituída por 42 indivíduos.

As radiografias e ecocardiografias utilizadas para a realização deste trabalho foram efetuadas em contexto clínico e com não mais de cinco dias de intervalo entre ambas.

O aparelho de raios-x utilizado no HVME para o exame radiográfico foi o Toshiba Rotanode™, modelo E7239X (Kawasaki, Japão). O exame foi realizado sem sedação e com as constantes predefinidas no equipamento para o peso do paciente em questão. Foram realizados dois planos de exposição: laterolateral esquerdo e ventrodorsal. A imagem foi registada em cassete Fujifilm FCR, revelada com o Fujifilm FCR CapsulaX (Tóquio, Japão), ficando guardadas em formato DICOM.

A avaliação radiográfica foi realizada com o auxílio da médica veterinária que acompanhou os casos. O valor do VHS foi obtido medindo, no plano laterolateral (LL), o eixo longo (desde a carina ao ápex) e o eixo curto (perpendicular ao primeiro, na zona mais larga) do coração, fazendo corresponder cada uma destas medidas à coluna vertebral começando na vértebra T4.

Para o exame ecocardiográfico foi utilizado o ecógrafo Toshiba Nemio 30 (Toshigi, Japão), e sonda setorial de 5MHz. Foi realizada a tricotomia das áreas direita e esquerda no tórax ao nível da área do choque pré-cordial. O exame foi realizado sem sedação do animal, com auxílio de um ajudante para a imobilização, e foram examinados os cortes padrão, listados na tabela 6.

Tabela 6 – Cortes padrão, direitos e esquerdos, utilizados no exame ecocardiográfico

<i>Cortes direitos</i>			<i>Cortes esquerdos</i>	
Parasternal	de	Quatro câmaras	Apical	Quatro câmaras
		Cinco câmaras		Cinco câmaras
Parasternal	de	Nível dos músculos papilares		Duas câmaras
		Nível da válvula mitral	Cranial	Válvula tricúspide
		Nível da válvula aórtica		Aorta
		Nível da artéria pulmonar		Cranial

As medições para o cálculo do rácio AE/Ao foram obtidas em modo 2D num corte de eixo curto e no início da diástole (quando as valvas da válvula aórtica se encontram fechadas), sendo realizadas entre os limites inferiores das câmaras. Mediu-se o diâmetro da aorta desde a cúspide coronária direita até à comissura entre as cúspides esquerda e não coronária, e o diâmetro do átrio esquerdo desde a linha que se estende a partir da medição aórtica até à parede atrial, tentando evitar a veia pulmonar.

As medições do DIVED e do DIVEs foram efetuadas em modo-M, a partir de um corte de eixo curto, sendo o DIVED obtido no fim da diástole (no início do complexo QRS) e o DIVEs no final da sístole (no pico de movimento da parede septal).

A fração de encurtamento (FS) foi obtida a partir dos valores do DIVED e DIVEs obtidos como anteriormente descrito, segundo a fórmula $(DIVED - DIVEs) / DIVED \times 100$.

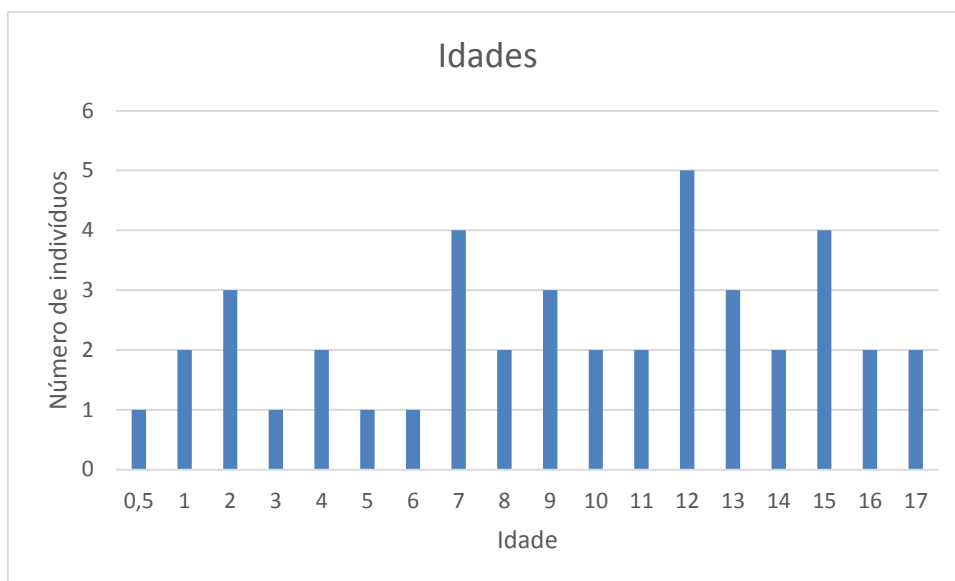
O EPSS obteve-se em modo-M, a partir de um corte de eixo curto ao nível da válvula mitral, medindo a distância entre o septo e o ponto de máxima abertura da valva anterior da mitral (ponto E), no início da sístole.

Com o auxílio do programa Microsoft Office Excel foi efetuado o cruzamento dos dados recolhidos e cálculo dos coeficientes de correlação de Pearson relativos às relações entre o VHS e, respetivamente, os valores ecocardiográficos AE/Ao, DIVED, DIVEs, FS e EPSS. Testou-se a significância de cada correlação utilizando o teste *t* de Student.

Resultados

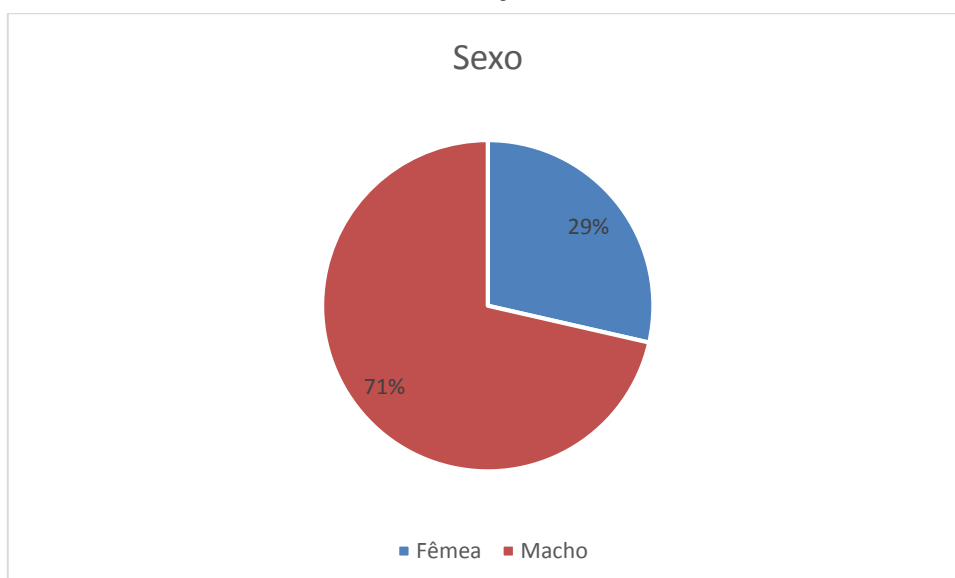
Abaixo, apresenta-se graficamente uma breve caracterização da amostra quanto à idade, ao sexo, ao porte, à raça (gráficos 3, 4, 5 e 6 e na tabela 7).

Gráfico 3 – Frequências absolutas de idades na amostra.



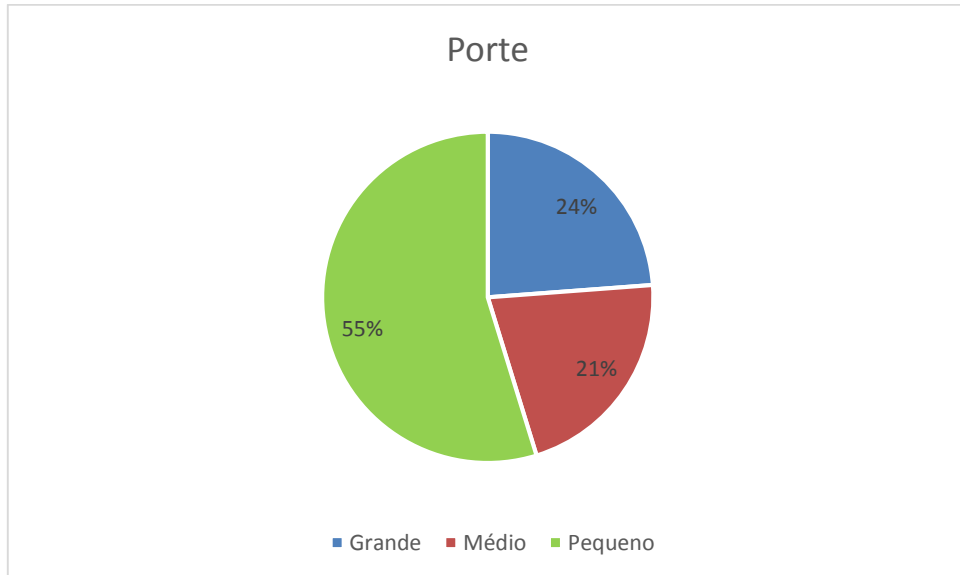
A amostra é composta por cães de todas as idades, embora, na sua maioria, sejam idosos. A média de idades é de $9,44 \pm 4,86$ anos.

Gráfico 4 – Percentagem de cada sexo na amostra



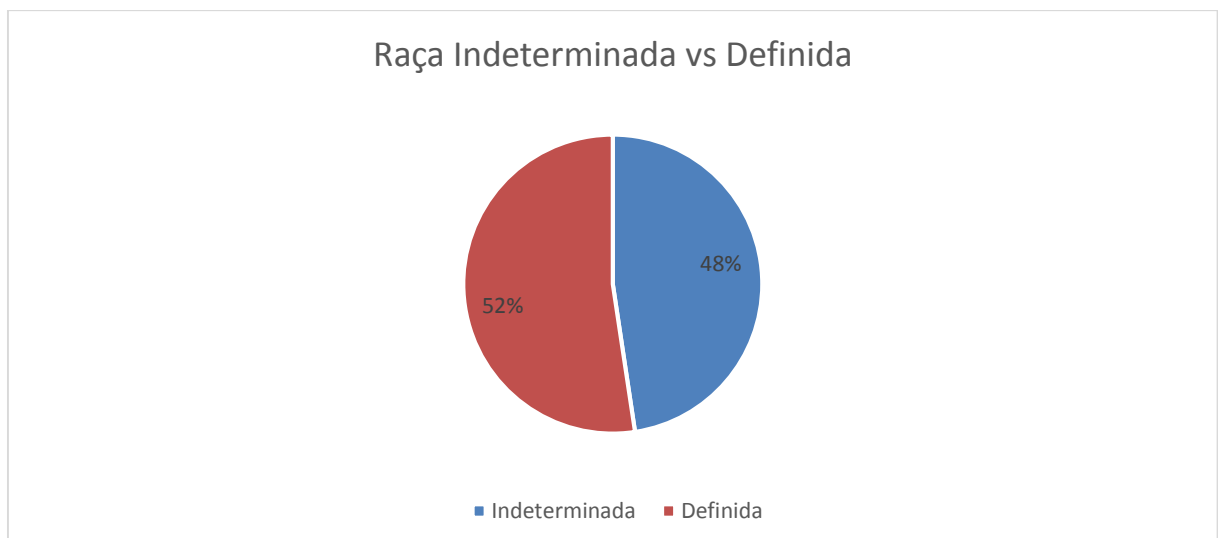
Verificou-se que a maioria dos animais com suspeita clínica que levou à realização dos exames eram machos, constituindo aproximadamente dois terços da amostra.

Gráfico 5 – Percentagem de cães de pequeno, médio e grande porte na amostra



Mais de metade dos animais incluídos nesta amostra são cães de pequeno porte, sendo que os grupos constituídos, respetivamente, pelos animais de médio e de grande porte compõem aproximadamente um quarto da amostra cada um.

Gráfico 6 – Percentagem de cães de raça indeterminada e de raça definida na amostra



O gráfico 6 expõe a percentagem de cães de raça indeterminada comparando com a percentagem de animais de raça definida presentes na amostra. A tabela 7 descreve as diferentes raças presentes.

Tabela 7 – Raças presentes e sua frequência absoluta na amostra

Raça	Nº
Indeterminada	20
Bichon maltês	1
Boxer	4
Braco Alemão	1
Caniche	5
Cocker Spaniel	3
Golden Retriever	1
Jack Russel Terrier	1
Labrador Retriever	2
Pinscher miniatura	1
Cão da Serra Estrela	1
Whippet	1
Yorkshire Terrier	1

Tabela 8 – Diagnósticos realizados e sua frequência absoluta na amostra. DCM: cardiomiopatia dilatada; CNC: causa não cardíaca – doença secundária a causas externas ao coração; DI: diagnóstico indefinido – casos em que não foi possível um diagnóstico definitivo à altura de realização dos exames; EP: estenose da artéria pulmonar; ESA: estenose sub-aórtica; MMVD: doença mixomatosa da válvula mitral ou endocardiose da mitral; N: normal – casos em que não foram encontradas quaisquer alterações à altura da realização dos exames.

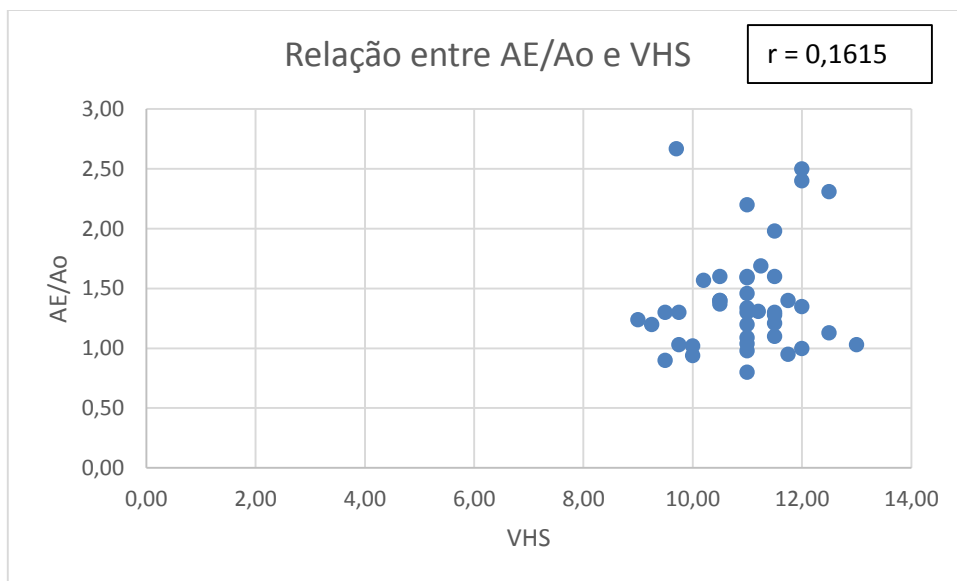
Diagnóstico	Nº
DCM	2
CNC	6
DI	2
EP	1
ESA	7
MMVD	16
N	8

A tabela 7 lista as afeções diagnosticadas nos indivíduos constituintes da amostra, quando tal foi possível, indicando os casos em que não o foi.

Correlação entre AE/Ao e VHS

Os dados recolhidos foram organizados num gráfico de dispersão para facilitar a visualização (gráfico 7) e calculou-se o coeficiente de correlação (r) entre o rácio AE/Ao e o valor do VHS.

Gráfico 7 – Gráfico de dispersão representando a relação entre os valores do VHS, determinado na radiografia torácica, e os rácios átrio esquerdo/aorta, determinado na ecocardiografia. No canto superior direito do gráfico mostra-se o valor do coeficiente de correlação de Pearson para os dados representados.



Teste de significância da correlação utilizando a distribuição t de Student

Valor crítico para 40 graus de liberdade e nível de significância de 5%:

$$t_{0,05;40} = 2,021$$

Cálculo do valor do teste:

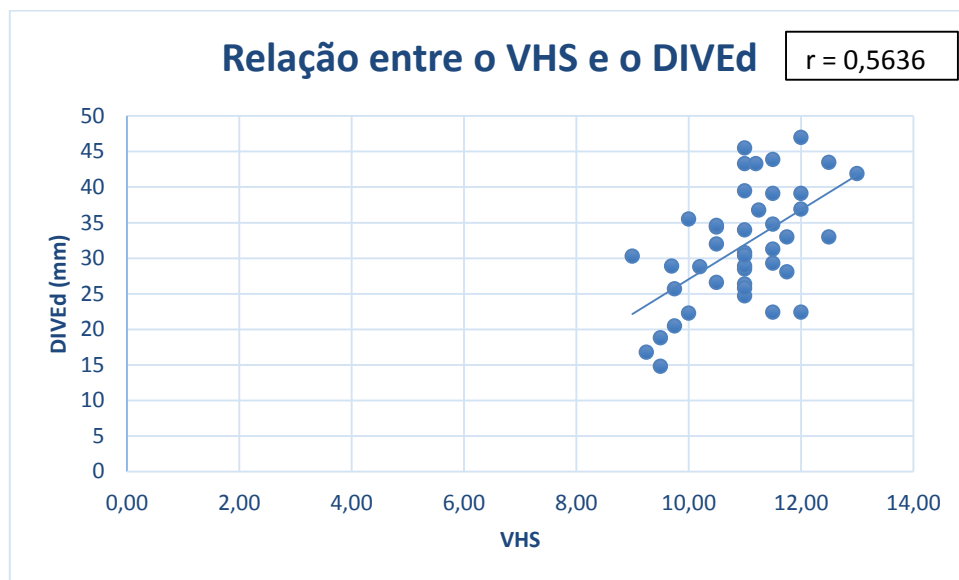
$$t_{\text{calc}} = \frac{r}{\sqrt{\frac{1-r^2}{n-2}}} = \frac{0,1615}{\sqrt{\frac{1-0,026}{42-2}}} = \frac{0,1615}{0,156} \approx 1,035$$

Uma vez que $t_{\text{calc}} < t_{0,05;40}$, não se rejeita a hipótese nula, concluindo-se que não existe evidência de correlação entre os dois valores.

Correlação entre DIVEd e VHS

Os dados recolhidos foram organizados num gráfico de dispersão para facilitar a visualização (gráfico 8) e calculou-se o coeficiente de correlação entre o DIVEd e o valor do VHS.

Gráfico 8 – Gráfico de dispersão representando a relação entre os valores do VHS, determinado na radiografia torácica, com os valores do DIVEd, determinado na ecocardiografia. No canto superior direito do gráfico mostra-se o valor do coeficiente de correlação de Pearson para os dados representados.



Teste de significância da correlação utilizando a distribuição t de Student

Valor crítico para 40 graus de liberdade e nível de significância de 5%:

$$t_{0,05;40} = 2,021$$

Cálculo do valor do teste:

$$t_{\text{calc}} = \frac{r}{\sqrt{\frac{1-r^2}{n-2}}} = \frac{0,5636}{\sqrt{\frac{1-0,3176}{42-2}}} = \frac{0,5636}{0,1306} \approx 4,315$$

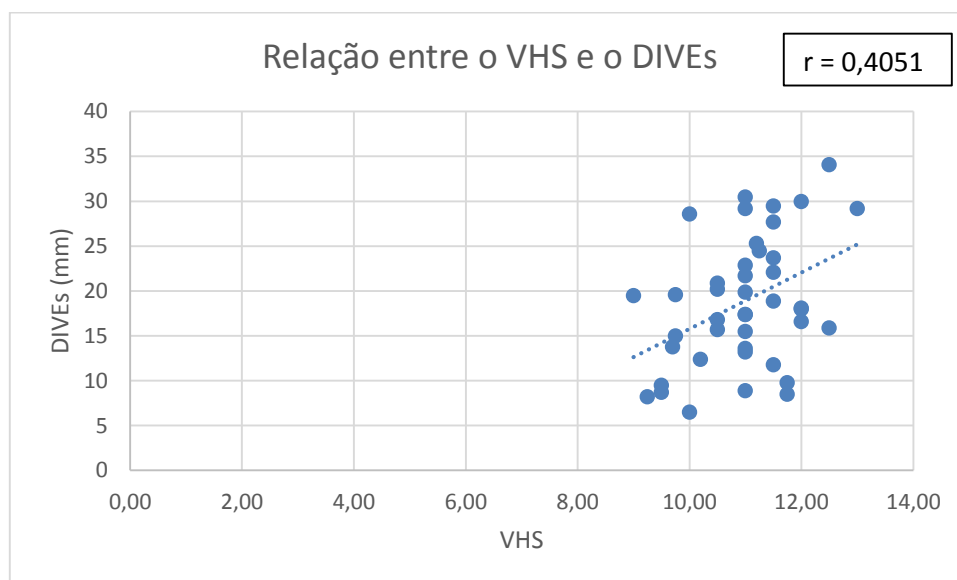
Uma vez que $t_{\text{calc}} > t_{0,05;40}$, rejeita-se a hipótese nula, concluindo-se que o valor obtido para a correlação é significativo.

Sendo $r = 0,5636$, a correlação existente entre os valores do VHS na radiografia torácica e os valores do diâmetro ventricular esquerdo em diástole recolhidos através de ecografia é de intensidade moderada.

Correlação entre DIVEs e VHS

Os dados recolhidos foram organizados num gráfico de dispersão para facilitar a visualização (gráfico 9) e calculou-se o coeficiente de correlação entre o DIVEs e o valor do VHS.

Gráfico 9 – Gráfico de dispersão representando a relação entre os valores do VHS, determinado na radiografia torácica, com os valores do DIVEs, determinado na ecocardiografia. No canto superior direito do gráfico mostra-se o valor do coeficiente de correlação de Pearson para os dados representados.



Teste de significância da correlação utilizando a distribuição t de Student

Valor crítico para 40 graus de liberdade e nível de significância de 5%:

$$t_{0,05;40} = 2,021$$

Cálculo do valor do teste:

$$t_{\text{calc}} = \frac{r}{\sqrt{\frac{1-r^2}{n-2}}} = \frac{0,4051}{\sqrt{\frac{1-0,1641}{42-2}}} = \frac{0,4051}{0,145} \approx 2,79$$

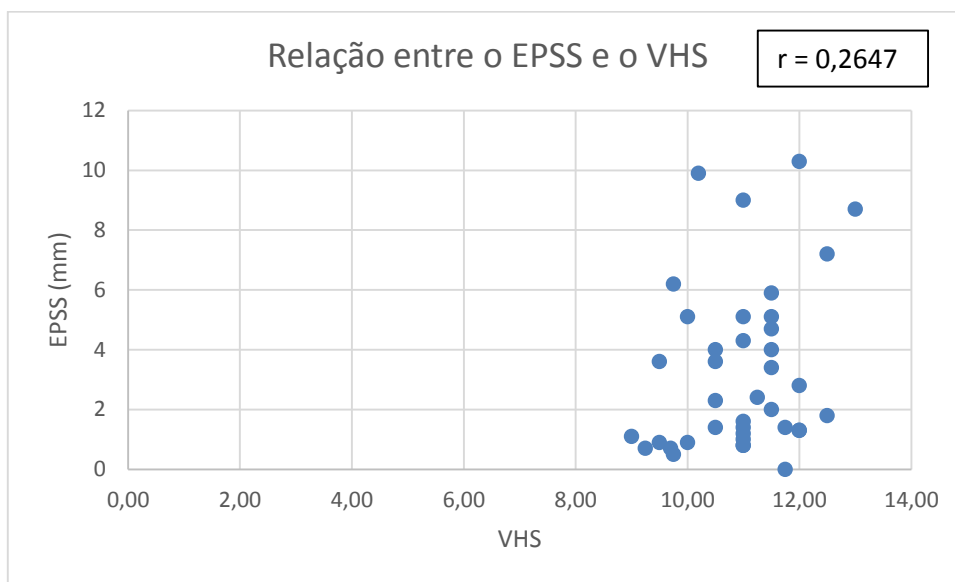
Uma vez que $t_{\text{calc}} > t_{0,05;40}$, rejeita-se a hipótese nula, concluindo-se que o valor obtido para a correlação é significativo.

Sendo $r = 0,4051$, a correlação existente entre os valores do VHS na radiografia torácica e os valores do diâmetro ventricular esquerdo em sístole recolhidos através de ecografia é de intensidade moderada.

Correlação entre EPSS e VHS

Os dados recolhidos foram organizados num gráfico de dispersão para facilitar a visualização (gráfico 10) e calculou-se o coeficiente de correlação entre os valores do EPSS e do VHS.

Gráfico 10 – Gráfico de dispersão representando a relação entre os valores do VHS, determinado na radiografia torácica, com os valores do EPSS, determinado na ecocardiografia. No canto superior direito do gráfico mostra-se o valor do coeficiente de correlação de Pearson para os dados representados.



Teste de significância da correlação utilizando a distribuição t de Student

Valor crítico para 40 graus de liberdade e nível de significância de 5%:

$$t_{0,05;40} = 2,021$$

Cálculo do valor do teste:

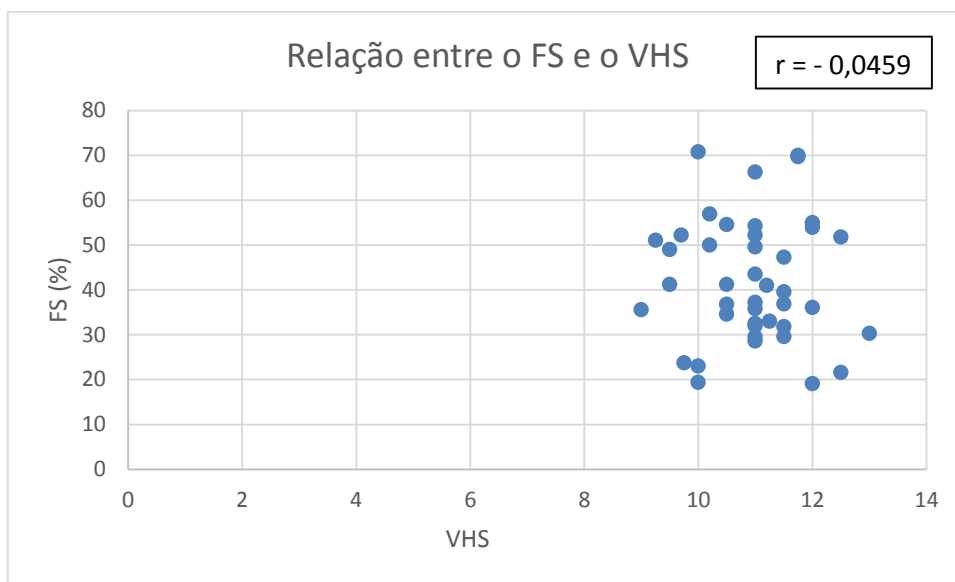
$$t_{\text{calc}} = \frac{r}{\sqrt{\frac{1-r^2}{n-2}}} = \frac{0,2646}{\sqrt{\frac{1-0,07}{42-2}}} = \frac{0,2646}{0,1525} \approx 1,735$$

Uma vez que $t_{\text{calc}} < t_{0,05;40}$, não se rejeita a hipótese nula, concluindo-se que não existe evidência de correlação entre os dois valores.

Correlação entre FS e VHS

Os dados recolhidos foram organizados num gráfico de dispersão para facilitar a visualização (gráfico 11) e calculou-se o coeficiente de correlação entre os valores do FS e do VHS.

Gráfico 11 – Gráfico de dispersão representando a relação entre os valores do VHS, determinado na radiografia torácica, com os valores do FS, determinado na ecocardiografia. No canto superior direito do gráfico mostra-se o valor do coeficiente de correlação de Pearson para os dados representados.



Teste de significância da correlação utilizando a distribuição t de Student

Valor crítico para 40 graus de liberdade e nível de significância de 5%:

$$t_{0,05;40} = 2,021$$

Cálculo do valor do teste:

$$t_{\text{calc}} = \frac{r}{\sqrt{\frac{1-r^2}{n-2}}} = \frac{-0,0459}{\sqrt{\frac{1-0,0021}{42-2}}} = \frac{-0,0459}{0,1579} \approx 0,29$$

Uma vez que $t_{\text{calc}} < t_{0,05;40}$, não se rejeita a hipótese nula, concluindo-se que não existe evidência de correlação entre os dois valores.

Discussão

O presente estudo foi realizado utilizando resultados de exames (radiografia e ecocardiografia) realizados em contexto clínico. Como tal, não existiu uma padronização estrita na realização dos mesmos exames propositadamente para este estudo, tendo os mesmos sido realizados segundo os protocolos habituais do hospital, que poderão ter sido sujeitos a pequenas adaptações segundo o caso particular.

Outro fator que poderá ser considerado limitante é o equipamento utilizado para realização da ecocardiografia, que não é otimizado para exame ecocardiográfico veterinário.

A amostra de casos utilizada no presente estudo foi selecionada segundo o critério de disponibilidade. Como tal, as características da mesma são heterogéneas.

O diagnóstico mais frequente entre os pacientes amostrados foi MMVD, o que seria de esperar, tendo em conta que se trata da doença cardiovascular mais comumente diagnosticada em cães, constituindo mais de 70% de todas as doenças cardiovasculares (Parker & Kilroy-Glynn, 2012).

A média de idades é de $9,44 \pm 4,86$ anos. A mediana é de 10 anos, significando que 50% dos indivíduos considerados têm idade superior, sendo a moda 12 anos. Temos, então, que a maior parte da amostra é constituída por animais considerados idosos. Quer a MMVD, quer outras afeções cardiovasculares menos frequentes, como a DCM, tendem a ser diagnosticadas entre a meia-idade e a velhice (Fuentes et al., 2010), não sendo este, portanto, um resultado inesperado.

Existe também uma sobre representação dos machos em relação às fêmeas de quase 3 para 1. Isto pode dever-se ao facto de, quer no caso da MMVD quer da DCM, os machos apresentarem sinais clínicos mais precocemente e um progresso mais rápido da doença que as fêmeas (Fuentes et al., 2010).

Cerca de metade da amostra (48%) é constituída por cães com uma raça definida. Um pouco mais de metade (55%) da mesma amostra é constituída por cães de pequeno porte, o que corresponde a 23 indivíduos. Várias das doenças cardiovasculares mais comuns em cães têm uma componente genética importante, sendo algumas raças particularmente suscetíveis. O subconjunto de raças predispostas a apresentar MMVD (entre as quais estão o Caniche, o Chihuahua, o Dachshound e o Cavalier King Charles Spaniel) tem a particularidade de ser constituído, na sua maioria, por animais cujo peso adulto médio é inferior a 9 kg, sendo que estas raças aparentam ter pouco em comum além do seu reduzido tamanho. Vários mecanismos foram propostos para explicar esta preponderância em animais pequenos (Parker & Kilroy-

Glynn, 2012), entre os quais: o crescimento não proporcional do coração e da cavidade torácica (maior razão coração/tamanho corporal) nestas raças; a proximidade entre genes relacionados com o crescimento e aqueles relacionados com o desenvolvimento das válvulas cardíacas, o que favorece fenómenos de hereditariedade conjunta; a sua possível ancestralidade comum.

No que diz respeito ao ventrículo esquerdo, foi encontrada uma relação significativa entre os resultados da ecocardiografia e do exame radiográfico.

Verificou-se a existência de uma correlação positiva estatisticamente significativa quer entre o VHS e o DIVEd, quer entre o VHS e o DIVEs. No caso do DIVEd, o valor de r encontrado ($r \approx 0,56$) foi um pouco maior que no caso do DIVEs ($r \approx 0,4$). Isto poderá ser explicado pelo facto de, na radiografia, a silhueta cardíaca ser capturada mais frequentemente em diástole, uma vez que é a fase do ciclo cardíaco de maior duração (Thrall, 2007). Deste modo, o VHS é mais frequentemente medido durante a diástole e haverá uma mais exata correspondência entre os valores. De notar que o valor de r encontrado sugere que qualquer uma destas correlações não é de forte intensidade, desencorajando a extrapolação de um valor a partir do outro. A existência de correlação, porém, indica que a medição do VHS no exame radiográfico, além de um útil termo comparativo entre várias radiografias de um mesmo animal ao longo do tempo (Thrall, 2007), pode ser também um indicador válido da existência de alterações no diâmetro interno ventricular mesmo numa primeira radiografia.

O EPSS tende a encontrar-se aumentado quando há disfunção diastólica e/ou dilatação cardíaca (reduzida contratilidade), sendo um dos parâmetros menores a considerar no diagnóstico da cardiomiopatia dilatada. Não foi, no entanto, possível encontrar uma correlação significativa entre este valor e o do VHS.

O FS é uma medida percentual da variação no diâmetro do ventrículo esquerdo em sístole. Como tal esperar-se-ia, ao contrário do que acontece nos casos anteriores, que, a existir correlação, esta fosse negativa, ou seja, que com o aumento do VHS (reflexo da dilatação das câmaras cardíacas), a fração de encurtamento se reduzisse. Interessantemente, apesar de o valor de r encontrado ser muito próximo de zero e, além disso, não ter sido possível validar a sua significância, verifica-se que tem valor negativo, indicativo da esperada relação inversa.

O facto de não se ter encontrado correlação significativa entre estes dois parâmetros de função sistólica e o VHS pode refletir a realidade da população de que, de facto, não se correlacionam. Há que ter em conta, porém, que a maioria dos métodos usados para medir a função sistólica são profundamente afetados pelas condições de carga do coração (Fuentes et al., 2010). Nomeadamente, quando existe regurgitação da mitral moderada a grave, os seus efeitos na pré-

carga e pós-carga resultam num ventrículo hiperdinâmico, o que pode mascarar uma disfunção sistólica existente, que os valores não refletem.

Para o átrio esquerdo, não se encontrou qualquer evidência de correlação linear entre o valor do AE/Ao e o VHS, o que não seria de esperar tendo em conta que o aumento do átrio esquerdo é a anomalia cardíaca mais frequentemente identificada no exame radiográfico, que é considerado um meio sensível para detetar dilatações moderadas a graves desta câmara cardíaca (Thrall, 2007). Dada a preponderância de casos de MMVD na amostra, seria de esperar um número razoável destes casos. Afinal, a dilatação do átrio esquerdo é característica da evolução desta afeção, sendo que a determinação da gravidade da regurgitação mitral presente inclui a avaliação da magnitude de dilatação atrial esquerda (Fuentes et al., 2010). Na realidade, na maioria dos casos aqui considerados, o rácio AE/Ao encontra-se abaixo do limite máximo considerado normal. Assim sendo, poderá dar-se o caso de uma correlação existente ser apenas detetável para dilatações mais graves do átrio.

Se de facto não existir correlação na população, ou esta for de fraca intensidade (como sugere o valor de r obtido), tal poderá dever-se ao facto de o VHS ser determinado usando os comprimentos base/ápex e sua perpendicular - o átrio esquerdo, quando aumentado, contribui pouco para o aumento do comprimento do eixo longo cardíaco, e a medição do eixo curto muitas vezes pode não levar em conta a maior extensão da silhueta do átrio.

Para os valores considerados em que não se entrou uma correlação significativa com o VHS (EPSS, FS e AE/Ao) deve ainda ressaltar-se a possibilidade de a amostra utilizada ser ainda demasiado pequena para revelar uma correlação presente na população.

Além disso, ao contrário do estudo referido acima (Nakayama et al., 2001), que foi realizado sobre modelos uniformes (Beagles com cardiomegália induzida por *pacemaker*), os dados aqui apresentados foram recolhidos em contexto clínico e portanto referem-se a casos de características bastante mais heterogéneas em termos de raça, idade e evolução doença.

Um dos fatores a ter em conta ao comparar a deteção do aumento das câmaras cardíacas esquerdas utilizando o VHS e a os valores ecocardiográficos é o facto do primeiro método se basear no comprimento das vértebras, sendo deste modo menos preciso e dificultando a deteção de aumentos pouco expressivos. A ecocardiografia confere maior precisão à quantificação da dimensão das câmaras, permitindo detetar aumentos quando ainda não é possível visualizar alterações na radiografia. A quantificação ecocardiográfica permite ainda considerar variações não patológicas com maior exatidão que o olho do observador na radiografia, ao fazer uso de

métodos que tomam em conta variações segundo o peso corporal, como o de Cornell (Schwarz & Johnson, 2009) ou de valores de referência específicos de cada raça.

No caso do ventrículo esquerdo, há que considerar, ainda, que alguns dos pacientes incluídos na amostra apresentavam hipertrofia concêntrica, difícil de detetar radiograficamente (Schwarz & Johnson, 2009).

Conclusão

Ressalvando, então, as limitações do presente estudo (o facto de os exames terem sido realizados em contexto clínico, sem padronização pré-estabelecida especificamente para o estudo; o facto de o equipamento utilizado na ecografia não ser especializado para medicina veterinária; a heterogeneidade da amostra), conclui-se que o valor do VHS se correlaciona positivamente e com uma intensidade moderada com o diâmetro interno do ventrículo esquerdo quer em sístole, quer em diástole.

Esta intensidade de correlação é insuficiente para se considerar extrapolar um dos valores a partir do outro. É, porém, indicativa de que uma alteração do VHS pode refletir, de facto, uma alteração efetiva do diâmetro interno do ventrículo esquerdo. Assim, trata-se de um valor a considerar, não só como termo comparativo entre vários exames radiográficos de um mesmo animal ao longo do tempo (Thrall, 2007), mas também como uma ferramenta útil para indicar a existência de alterações mesmo numa primeira radiografia.

Contrariamente, não foi possível tirar conclusões no que diz respeito à relação do VHS com o valor AE/Ao, ou com os parâmetros de função EPSS e FS.

Seria interessante realizar os mesmos cálculos utilizando uma amostra de dimensão consideravelmente maior. Isto permitiria, não só obter valores mais exatos para os coeficientes de correlação entre o VHS e, respetivamente, o DIVED e o DIVEs, mas também confirmar ou não a ausência de correlação entre este valor radiográfico e os valores AE/Ao, EPSS e FS.

Bibliografia

- Abdelazziz, A.I., Pagel, I., Schlegel, W.P., Kott, M., Monti, J., Haase, H., Morano, I. (2005) Human atrial myosin light chain 1 expression attenuates heart failure. *Advances in experimental medicine and biology*, 565, 283 – 92.
- Abozguia, K., Elliott, P., McKenna, W., Phan, T. T., Nallur-Shivu, G., Ahmed, I., Maher, A.R., Kaur, K., Taylor, J., Henning, A., Ashrafian, H., Watkins, H., Frenneaux, M. (2010) Metabolic modulator perhexiline corrects energy deficiency and improves exercise capacity in symptomatic hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*, 122 (16), 1562-9.
- Amin, A.S., Tan, H.L., Wilde, A.A.M., (2010) Cardiac ion channels in health and disease. *Heart Rhythm*, 7, 117 – 126.
- Balakumar, P., Singh, A.P., Ganti, S.S., Krishan, P., Ramasamy, S., Singh, M. (2007) Resident Cardiac Mast Cells: Are They The Major Culprit in The Pathogenesis in Cardiac Hypertrophy? *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 102, 5-9.
- Bilsen, M., Nieuwenhover, F.A., Vusse, G.J. (2009) Metabolic remodeling of the failing heart: beneficial or detrimental? *Cardiovascular Research*, 81, 420-428.
- Bito, V., Heinzel, F.R., Biesmans, L., Antoons, G. & Sipido, K.R. (2008) Crosstalk between L-type Ca^{2+} channels and the sarcoplasmic reticulum: alterations during cardiac remodeling. *Cardiovascular Research*, 77, 315 – 324.
- Boengler, K. (2009) Stimulation of cardiac β -adrenoreceptors targets connexin 43. *British Journal of Pharmacology*, 158, 195-197.
- Brancaccio, M., Hirsch, E., Notte, A., Selvetella, G., Lembo, G. & Tarone, G. (2006) Integrin Signaling: The tug-of-war in heart hypertrophy. *Cardiovascular Research*, 70, 422 – 433.
- Buchanan, J. W., Bücheler J. (1995) Vertebral scale system to measure canine heart size in radiographs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 206(2), 194-9.
- Chiong, M., Wang, Z.V., Pedrozo, Z., Cao, D.J., Troncoso, R., Ibáñez, M., Criollo, A., Nemchenko, A., Hill, J.A., Lavandero, S. (2011) Cardiomyocyte death: mechanisms and translational implications. *Cell Death and Disease*, 2, e244.
- Cosyns, b., Haberman, D., Droogmans, S., Warzée, S., Mahieu, P., Laurent, E., Moonen, M., Hernot, S. and Lancellotti, P. (2009) Comparison of contrast enhanced three dimensional echocardiography with MIBI gated SPECT for the evaluation of left ventricular function. *Cardiovascular Ultrasound*, 7, 27.
- Creemers, E.E. & Pinto, Y.M. (2011) Molecular mechanisms that control interstitial fibrosis in the pressure-overloaded heart. *Cardiovascular research*, 89, 265 – 272.

- Cunningham, J.G. (2004) *Tratado de Fisiologia Veterinária* (3ª edição) Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Divakaran, V., & Mann, D.L. (2008) The Emerging Role of Micro RNAs in Cardiac Remodeling and Heart Failure. *Circulation Research*, 103, 1072 – 1083.
- Dorn, G.W., (2009) Apoptotic and non-apoptotic programmed cardiomyocyte death in ventricular remodeling. *Cardiovascular Research*, 81, 465-473.
- Eisner, D.A., Trafford, A.W., Díaz, M.E., Overend, C.E., O'Neill, S.C. (1998) The regulation of Ca release from the cardiac sarcoplasmic reticulum: regulation versus autoregulation. *Cardiovascular Research* 38, 589 – 604.
- Empel, V.P.M, Bertrand, A.T.A., Ofstra, L., Crijns, H., Doevendans, P.A., Windt, L.J.D. (2005) Myocyte apoptosis in heart failure. *Cardiovascular Research*, 67, 21-29.
- Folland, E.D., Parisi, A.F., Moynihan, P.F., Jones, D.R., Feldman, C.L., Tow, D.E. (1979) Assessment of left ventricular ejection fraction and volumes by real-time, two-dimensional echocardiography. A comparison of cineangiographic and radionuclide techniques. *Circulation Journal*, 60(4), 760-766.
- French, A. (2008). Introduction to electrocardiography. *Proceedings of the 33rd World Small Animal Veterinary Congress* (pp. 116-118). Dublin: IVIS.
- Fuentes, V.L., Johnson, L.R., Dennis, S. (Eds.)(2010) *BSAVA Manual of Canine and Feline Respiratory Medicine* (2ª edição) Gloucester: British Small Animal Veterinary Association.
- Fuller, G.A., Bicer, S., Hamlin, R.L., Yamaguchi, M., Reiser, P.J., (2007) Increased myosin heavy chain-beta with atrial expression of ventricular light chain-2 in canine cardiomyopathy. *Journal of Cardiac Failure* , 13 (8), 680 – 6.
- George, C.H. (2008) Sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ leak in heart failure: mere observation or functional relevance? *Cardiovascular Research*, 77, 302 – 314.
- Hamdani, M., Kooij, V., Dijk, S., Merkus, D., Paulus, W.J., Remedios, C., Duncker, D.J., Stienen, D.J.M. & Velden, J., (2008) Sarcomeric dysfunction in heart failure. *Cardiovascular research*, 77, 649 – 658.
- Handoko, M.L., Man, F.S., Vonk-Noordegraaf, A., (2011) The rise and fall of endothelin receptor antagonists in congestive heart failure. *European Respiratory Journal*, 37, 484 – 485.
- Hansson, K., Häggström, J., Kvart, C., Lord, P. (2005) Interobserver variability of vertebral heart size measurements in dogs with normal and enlarged hearts. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 46(2), 122-130.
- Kolwics, S.C., Tian, R., (2011) Glucose metabolism and cardiac hypertrophy. *Cardiovascular Research*, 90, 194-201.

- Kukielka, M., Holycross, B.J., Billman, G.E. (2011) Endurance exercise training reduces cardiac sodium/calcium exchanger expression in animals susceptible to ventricular fibrillation. *Frontiers in Physiology*, 2.
- Lessick, J., Mutlak, D., Rispler, S., Ghersin, E., Dragu, R., Litmanovich, D., Engel, A., Reisner, S. A., Agmon, Y. (2005) Comparison of multidetector computed tomography versus echocardiography for assessing regional left ventricular function. *The American Journal of Cardiology*, 96(7), 1011-5.
- Lionetti, V., Stanley, W.C., Recchia, F.A. (2011) Modulating fatty acid oxidation in heart failure. *Cardiovascular Research*, 90, 202-209.
- Liu X, Gu X, Li Z, Li X, Li H, Chang J, Chen P, Jin J, Xi B, Chen D, Lai D, Graham RM, Zhou M (2006) Neuregulin-1/erbB-activation improves cardiac function and survival in models of ischemic, dilated, and viral cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*, 48(7), 1438 – 47.
- Ljungvall, I., Höglund, K., Lilliehöök, I., Oyama, M.A., Tidholm, A., Tvedten, H., Häggström, J. (2013) Serum serotonin concentration is associated with severity of myxomatous mitral valve disease in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27(5), 122-130.
- Lüscher T.F., Barton, M. (2000) Endothelins and Endothelin Recetor Antagonists: Therapeutic Considerations for Novel Class of Cardiovascular Drugs. *Circulation*, 102, 2434 – 2440.
- Machackova, J., Barta, J. & Dhalla, N.S., (2006) Myofibrillar remodelling in cardiac hypertrophy, heart failure and cardiomyopathies. *Canadian Journal of Cardiology*, 22 (11), 953 – 968.
- Masimenko, A. V., Vavaev, A. V. (2012) Antioxidant enzymes as potential targets in cardioprotection and treatment of cardiovascular diseases. Enzyme antioxidants: the next stage of pharmacological counterwork to the oxidative stress. *Heart International*, 7(1), e3.
- Matsumoto, T., Wada, A., Tsutamoto, T., Ohnishi, M., Isono, T., Kinoshita, M. (2003) Chymase Inhibition Prevents Cardiac Fibrosis and Improves Diastolic Dysfunction in the Progression of Heart Failure. *Circulation*, 107, 2555 – 2558.
- Michael, G., Xiao, L., Qi, X., Dobrev, D., Nattel, S. (2009) Remodelling of cardiac repolarization: how homeostatic responses can lead to arrhythmogenesis. *Cardiovascular Research*, 81, 491-499.
- Miner, E.C. & Miller, W.L. (2006) A Look Between Cardiomyocytes: The Extracellular Matrix in Heart Failure. *Mayo Clinic Proceedings*, 81 (1), 71 – 76.
- Murdoch, C.E, Zhang, M., Cave, A.C. & Shah A.M. (2006) NADPH-dependent redox signaling in cardiac hypertrophy, remodeling and failure. *Cardiovascular research*, 71, 208 – 215.
- Nakayama, H., Nakayama T., Hamlin R.L. (2001) Correlation of cardiac enlargement as assessed by vertebral heart size and echocardiographic and electrocardiographic findings in

dogs with evolving cardiomegaly due to rapid ventricular pacing. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 15(3), 217-21.

Nattel, S., Maguy, A., Bouter, S. & Yeh, Y. (2007) Arrhythmogenic Ion-Channeling Remodeling in the Heart: Heart Failure, Myocardial Infarction, and Atrial Fibrillation. *Physiological Reviews*, 87, 425 – 456.

Nelson, R.W., Couto, C.G. (2006) *Medicina Interna de Pequenos Animais* (3ª Edição) Rio de Janeiro: Elsevier.

Nishida, K., Otsu, K. (2008) Cell death in heart failure. *Circulation Journal*, Supplement A, A-17 – A-21.

Park, N., Lee, M., Lee, A., Lee, S., Lee, S., Song, S., Jung, J., Eom K. (2012) Comparative Study of Cardiac Anatomic Measurements Obtained by Echocardiography and Dual-Source Computed Tomography. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 74(12), 1597-1602.

Parker, H.G. & Kilroy-Glynn, P. (2012) Myxomatous mitral valve disease in dogs: Does size matter? *Journal of Veterinary Cardiology*, 14, 19-29

Pat, B., Chen, Y., Killingsworth, C., Gladden, J.D., Shi, K., Zheng, J., Powell, P.C., Walcott, G., Ahmed, M.I., Gupta, H., Desai, R., Wei, C., Hase, N., Kobayashi, T., Sabri, A., Granzier, H., Denney, T., Tillson, M., Dillon, A.R., Husain, A., Dell'Italia, L.J. (2010) Chymase Inhibitor Prevents Fibronectin and Myofibrillar Loss and Improves Cardiomyocyte Function and LV Torsion Angle in Dogs With Isolated Mitral Regurgitation. *Circulation*, 102, 1488 – 1495.

Peschar, M., Vernooy, K., Cornelussen, R.N., Verbeek, X.A.A.M., Reneman, R.S., Vos, M.A., Prinzen, F.W. (2004) Structural, electrical and mechanical remodeling in the canine heart in AV-block and LBBB. *European Heart Journal*, 6, Supplement D, D61-D65.

Ramadeen, A., Connelly K.A., Leong-Poi, H., Hu, X., Fujii, H., Laurent, G., Domenichiello, A.F., Bazinet, R.P., Dorian, P. (2012) Docosahexaenoic Acid, but Not Eicosapentaenoic Acid, Supplementation Reduces Vulnerability to Atrial Fibrillation. *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology*, 5, 978-983.

Rastogi, S., Gerrero, M., Wang, M., Ilisar, I., Sabbah, M.S., Gupta, R.C., Sabbah, H.N., (2011) Myocardial transfection with naked DNA plasmid encoding hepatocyte growth factor prevents the progressions of heart failure in dogs. *American Journal of Physiology, Heart and Circulatory Physiology*, 300, H1501 – H1509.

Reuter, H., Pott, C., Goldhaber, J.I., Handerson, S.A., Philipson, K.D., Schwinger, R.H.G. (2005) Na^+ - Ca^{2+} exchange in the regulation of the cardiac excitation-contraction coupling. *Cardiovascular Research*, 67, 198-207.

Rooij, E. & Olson, E.N. (2007) MicroRNAs: powerful new regulators of heart disease and provocative therapeutic targets. *Journal of Clinical Investigation*, 117, 2369 – 2376.

- Ruiz-Meana, M., Fernandez-Sanz, C., Garcia-Dorado, D. (2010) The SR-mitochondria interaction: a new player in cardiac pathophysiology. *Cardiovascular Research*, 88, 30-39.
- Sabbah, H.N., Gupta, R.C., Imai, M., Irwin, E.D., Rastogi, S., Rossing, M.A., Kieval, R.S. (2011) Chronic Electrical Stimulation of the Carotid Sinus Baroreflex Improves Left Ventricular Function and Promotes Reversal of Ventricular Remodeling in Dogs with Advanced Heart Failure. *Circulation: Heart Failure*, 4, 65 – 70.
- Sagols, E., Priymenko, N. (2011) Oxidative Stress in Dog with Heart Failure: The Role of Dietary Fatty Acids and Antioxidants. *Veterinary Medicine International*, volume 2011.
- Schnee, J.M. & Hsueh, W.A. (2000) Angiotensin II, adhesion and cardiac fibrosis. *Cardiovascular research*, 46, 264 – 268.
- Schwarz, T., Johnson, V. (Eds.)(2009) *BSAVA Manual of Canine and Feline Thoracic Imaging* (1ª edição) Gloucester: British Small Animal Veterinary Association.
- Seddon, M., Looi Y.H. & Shah A.M. (2007) Oxidative stress and redox signaling in cardiac hypertrophy and heart failure. *Heart*, 93, 903-907.
- Severs, N.J., Bruce, A.F., Dupont, E., Rothery, S. (2008) Remodelling of gap junctions and connexin expression in diseased myocardium. *Cardiovascular Research*, 80, 9-19.
- Severs, N.J., Coppen, S.R., Dupont, E., Yeh, H., Ko, Y., Matsushita, T. (2004) Gap junction alterations in human cardiac disease. *Cardiovascular Research*, 62, 368-377.
- Shen, Y., Malik, F.I., Zhao, X., Depre, C., Dhar, S.K., Abarzúa, P., Morgans, D.J., Vatner, S.F. (2010) Improvement of Cardiac Function by a Cardiac Myosin Activator in Conscious Dogs with Systolic Heart Failure. *Circulation: Heart Failure*, 3, 522 – 527.
- Shirasaka, T., Miyagawa, S., Fukushima, S., Saito, A., Shiozaki, M., Kawaguchi, N., Matsuura, N., Nakatani, S., Sakai, Y., Daimon, T., Okita, Y., Sawa, Y. (2013) A slow-releasing form of prostacyclin agonist (ONO1301SR) enhances endogenous secretion of multiple cardiotherapeutic cytokines and improves cardiac function in a rapid-pacing-induced model of canine heart failure. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 146(2), 413-421.
- Sugeng, L., Mor-Avi, V., Weinert, L., Niel, J., Ebner, c., Stering- er-Mascherbauer, R., Schmidt, F., Galuschky, C., Schummers, G., Lang, R. M. and Nesser, H. J. (2006) Quantitative assessment of left ventricular size and function: Side-by-Side comparison of real-time three-dimensional echocardiography and computed tomography with magnetic resonance reference. *Circulation Journal*, 114, 654–661.
- Takahama, H., Asanuma, H., Sanada, S., Fujita, M., Sasaki, H., Wakeno, M., Kim, J., Asakura, M., Takashima, S., Minamino, T., Komamura, K., Sugimachi, M., Kitakaze, M. (2010) A histamine H₂ recetor blocker ameliorates development of heart failure in dogs independently of β -adrenergic recetor blockade. *Basic Research in Cardiology*, 105(6), 787-794.

- Takano, H., Hasegawa, H., Nagai, T. & Komuro, I. (2003) Implications of cardiac remodeling in Heart Failure: Mechanisms and Therapeutic Strategies. *Internal Medicine*, 42, 465 – 469.
- Thrall, D.E. (2007) *Textbook of Veterinary Diagnostic Radiology* (5ª edição) Saunders Elsevier.
- Thum, T., Catalucci, D. & Bauersachs, J. (2008) Micro RNAs: novel regulators in cardiac development and disease. *Cardiovascular Research*, 79, 562 – 570.
- Tilley, L.P., (1992) *Essentials of canine and feline electrocardiography* (3ª edição) Philadelphia, Lea & Febiger.
- Toblli, J.E., DiGennaro, F., Giani, J.F., Dominici, F.P., (2012) Nebivolol: impact on cardiac and endothelial function and clinical utility. *Vascular Health and Risk Management*, 8, 151 - 160.
- Tomaselli, G.F., Marbán, E. (1999) Electrophysiological remodeling in hypertrophy and heart failure. *Cardiovascular Research*, 42, 270 – 283.
- Tombe, P.P., (1998) Altered contractile function in heart failure. *Cardiovascular research*, 37, 367 – 380.
- Tsutsui, H., Kinugawa, S., & Matsushima, S. (2009). Mitochondrial oxidative stress and dysfunction in myocardial remodeling. *Cardiovascular research*, 81, 449-456.
- Winckels, S. K.G. (2007) Ventricular electrical remodeling and arrhythmogenesis: Observations concerning the evolvment and reversibility, Tese de Doutorado, Utrecht: Universidade de Utrecht.
- Yano, M., Yamamoto, T., Kobayashi, S., Ykeda, Y. & Matsuzaki, M. (2008) Defective Ca²⁺ Cycling as a Key Pathogenic Mechanism of Heart Failure. *Circulation Journal*, Supplement A: A-22 – A30.
- Zhou, F., Zhong, W., Xue, J., Gu, Z. L., Xie, M. L. (2012) Reduction of rat cardiac hypertrophy by osthonol is related to regulation of cardiac oxidative stress and lipid metabolism. *Lipids*, 47(10), 987-94.